



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
BIBLIOTECA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470.
05403-000 São Paulo – SP.
Fone: 3061-7003 – E-mail: bibimt@usp.br



CATÁLOGO DE DISSERTAÇÕES E
TESES DEFENDIDAS NO IMTSP-USP
VOLUME 1 - 2010/2013

Coordenação e Organização:
Sonia Pedrozo Gomes
Carlos José Quinteiro

São Paulo
2014



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Reitor: Prof. Dr. Marco Antonio Zago

Vice-Reitor: Prof. Dr. Vahan Agopyan



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Diretor: Prof. Dr. Paulo César Cotrim

Vice-Diretor: Prof. Dr. Expedito José de Albuquerque Luna

COMISSÃO DE BIBLIOTECA

Prof. Dr. Jorge Simão do Rosário Casseb

Prof. Dr. Expedito José de Albuquerque Luna

Aluna Cristina Freitas Nunes

Bibliotecária Chefe Sonia Pedrozo Gomes

BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Bibliotecária Chefe: Sonia Pedrozo Gomes

Bibliotecário: Carlos José Quinteiro

Bibliotecária: Maria Ângela de Castro Fígaro Pinca

Auxiliar Técnico: Adenilson Leite Ribeiro

Endereço:

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470. CEP 05403-000 São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: bibimt@usp.br - Fone: 11 3061-7003 - Fax: 11 3062-2174.

Ficha catalográfica

Preparada pela Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da
Universidade de São Paulo

© Reprodução autorizada

Universidade de São Paulo. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.
Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.
Catálogo de dissertações e teses defendidas no IMTSP-USP: volume 1
– 2010/2013 / coordenação e organização Sonia Pedrozo Gomes, Carlos
José Quinteiro. São Paulo, Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de
São Paulo, 2014.
v.1.

1. Catálogos. 2. Dissertações. 3. Teses. 4. Medicina Tropical. Título.

APRESENTAÇÃO

O *Catálogo de Dissertações e Teses Defendidas no IMTSP-USP* apresenta os resumos de 28 dissertações e 11 teses defendidas no curso de pós-graduação do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo entre 2010 a 2013.

O objetivo de lançar o primeiro volume deste catálogo é divulgar e disponibilizar à comunidade o resultado quantitativo e qualitativo das pesquisas realizadas pelos alunos de pós-graduação do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo.

Os resumos estão organizados primeiramente por ordem cronológica e dentro desta pela ordem alfabética do sobrenome do autor.

A cada página do catálogo é encontrada informação sobre o nome do autor e título do trabalho; após a descrição do título existe a indicação se o trabalho é uma dissertação (mestrado) ou tese (doutorado), a seguir a instituição e a data. O resumo foi mantido na íntegra, assim como os descritores. Se a dissertação/tese foi inserida na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP, está disponível o *link* que leva ao texto integral.

Foram elaborados índices pelo nome completo do autor/autora do trabalho, pelo nome completo do orientador/orientadora e pelo assunto, que foi retirado dos descritores inseridos nos resumos. Todos remetem à página do resumo.

Agradecimento especial à Secretária da Pós-Graduação Eliane Fernandes Araújo pela atenção e ajuda prestadas sempre que solicitadas.

Sonia Pedrozo Gomes
Carlos José Quinteiro

2010

Arruda LB. Determinação do tropismo do HIV-1 pelos correceptores CCR5 e CXCR4 pelo uso de ferramentas de bioinformática (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2010.

A sequência de 35 aminoácidos da alça V3 da gp120 do gene env do HIV-1 é o principal determinante do tropismo viral pelos correceptores CCR5 ou CXCR4, utilizados pelo HIV-1 para a entrada na célula. O desenvolvimento de estratégias antirretrovirais baseadas no uso dos correceptores representa um avanço importante para o controle da progressão da infecção. Entretanto, o uso clínico dos antagonistas de CCR5 implica na determinação do tropismo das cepas virais do indivíduo infectado e os programas preditores de bioinformática para a determinação do tropismo poderiam ser uma alternativa mais acessível para a triagem dos candidatos ao uso dos antagonistas de CCR5. Este estudo teve como objetivo utilizar ferramentas de bioinformática para a predição de tropismo e avaliar sua aplicabilidade na prática clínica. Foram coletadas amostras de sangue periférico de 101 indivíduos infectados pelo HIV-1 e sob acompanhamento clínico, dos quais foram extraídas amostras de DNA proveniente de PBMCs. As amostras de DNA foram amplificadas por PCR para a região da alça V3, das quais foram obtidas 94 sequências. Os sistemas preditivos foram avaliados utilizando 185 sequências com tropismo conhecido provenientes de banco de dados. Com base nesta análise foi possível elaborar um algoritmo para a predição do tropismo com 94% de confiabilidade. Assim, a predição das 94 amostras demonstrou uma prevalência de 80% (n=75) de cepas R5 e 20% (n=19) de cepas X4. Os sistemas preditivos de tropismo podem representar uma importante estratégia para a triagem dos candidatos ao uso dos antagonistas de coreceptor, porém, não são capazes de substituir completamente os ensaios padrão-ouro para a determinação do tropismo.

Descritores: HIV. Tropismo. Bioinformática.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-04082012-213752/pt-br.php>

Santos SV. Alterações comportamentais em *Rattus norvegicus* experimentalmente infectados por *Toxocara cati* ou *T. canis* (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2010.

Toxocara canis e *T. cati* são nematódeos parasitos de cães e gatos, transmitidos pela ingestão de ovos larvados, pela via transmamária, por predação de hospedeiro paratênico e via transplacentária; essa última via ocorre na infecção por *T. canis*. Muitos parasitos apresentam mecanismos para alterar o comportamento de seus hospedeiros e garantir sua transmissão. Vários pesquisadores demonstraram ocorrência de alterações comportamentais, utilizando camundongos como modelo de hospedeiro paratênico para *Toxocara canis*. Porém, não há na literatura, estudos sobre a ocorrência de alterações de comportamento de *Rattus norvegicus* experimentalmente infectados por *T. cati*. Os objetivos do presente trabalho foram verificar a distribuição de larvas de *T. cati* em *Rattus norvegicus* e determinar as fases miotrópica e neurotrópica na infecção deste parasito; bem como comparar comportamentos deste roedor experimentalmente infectado com inóculo de *Toxocara canis* ou *Toxocara cati*, nos períodos agudo e crônico da infecção. As variáveis avaliadas foram: ansiedade, atividade motora e força muscular. Inicialmente utilizaram-se 21 ratos com idade de oito semanas, infectados com 300 ovos de *T. cati*. Nos dias 3, 5, 8, 10, 15, 30 e 60 pós-infecção três animais foram mortos para contagem das larvas em seus órgãos. A seguir foram utilizados 60 exemplares de *Rattus norvegicus*, com seis a oito semanas, divididos em três grupos: G1 – 20 ratos infectados com 300 ovos de *Toxocara canis*, G2 – 20 ratos infectados com 300 ovos de *Toxocara cati* e G3 – 10 ratos sem infecção. Nos dias 5, 15, 40 e 70 após a infecção, os animais dos grupos infectados e controle foram submetidos à avaliação das variáveis comportamentais e determinação da força muscular. Pôde-se verificar que a fase neurotrópica das larvas ocorreu principalmente no 15º dpi e 30º dpi. A fase miotrópica ocorreu em todo o período do experimento, porém especialmente no 15º e 60º dpi. Em relação à força muscular, pode-se observar diferença significativa nos três grupos apenas no 40º dpi. Nas variáveis comportamentais, somente os animais do grupo infectado com *T. canis* apresentaram diferença significativa no 40º dpi em relação ao grupo controle. Pode-se concluir que as larvas de *T. cati* têm comportamento migratório diferenciado e que existe alteração comportamental e diminuição da força muscular nos animais utilizados para este experimento o que, possivelmente, facilitaria a predação destes animais pelo cão e gato, hospedeiros definitivos de *T. canis* e *T. cati*, respectivamente.

Descritores: Toxocaríase. Helminologia. Comportamento animal. Força muscular. Ratos. Infecção experimental animal.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-06092013-160259/pt-br.php>

Zerbinati RM. Desenvolvimento e padronização de um método molecular diagnóstico de larga escala para infecções virais do trato respiratórias (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2010.

A grande diversidade etiológica associada às infecções respiratórias e os diferentes impactos clínicos imediatos e tardios associados a algumas destas causas indicam a necessidade de se avançar nos métodos de investigação etiológica de infecções respiratórias agudas. O uso de métodos em larga escala capazes de detectar múltiplos agentes parece ser a abordagem ideal para a investigação etiológica das infecções respiratórias agudas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e padronizar um método baseado em RT-PCR e PCR convencional, com detecção de fragmentos através de eletroforese capilar em seqüenciador automatizado, para identificação concomitante de 11 diferentes vírus respiratórios. Os *primers* foram selecionados através de pesquisa na literatura e previamente testados com amostras clínicas. As reações de PCR e RT-PCR foram padronizadas para realização em placa de 96 orifícios, sendo que cada coluna corresponde às diferentes reações para identificação dos alvos e cada linha às amostras. O método foi testado em 72 amostras de lavado nasofaríngeo de crianças com fibrose cística atendidas na Unidade de Pneumologia do Instituto da Criança HCFMUSP. Uma mistura única foi padronizada, à exceção dos *primers*, para todos os alvos; o mesmo foi feito para os parâmetros de ciclagem. Como controle interno da reação foram testadas a amplificação do gene da beta-actina e do gene Npro do vírus da diarreia bovina (BVDV). A amplificação do gene Npro do BVDV apresentou resultados mais satisfatórios e foi escolhida como controle interno da técnica. A revelação dos produtos de cada reação foi feita com *pools* de 5µl de cada linha para a corrida eletroforética em capilar no seqüenciador automatizado MegaBace. O *primer forward* de cada reação foi marcado com uma fluorescência para a detecção no seqüenciador. Como controle positivo da reação foi construído um plasmídeo contendo todas as seqüências alvos. Amostras do controle com diluições seriadas foram testadas, assim como amostras clínicas para avaliar sensibilidade e especificidade, e a técnica foi ainda comparada ao método de PCR em tempo real para alguns vírus respiratórios. A sensibilidade para diluições seriadas do controle positivo foi de 100 cópias por reação, para todos os alvos. O método foi capaz de identificar pelo menos um vírus em 33 amostras (46%) e em 39 amostras (64%) nenhum vírus foi identificado. Os picornavirus foram identificados em 30,5% das amostras, seguido por bocavírus humano em 6,9%, parainfluenza 3 e influenza A em 4,2%, e influenza B, coronavírus humano e metapneumovírus humano em 1 amostra cada. Quando comparado ao método de PCR em tempo real, uma concordância de 94% dos resultados foi observada. Estes resultados indicam que o método de PCR/RT-PCR em placa com detecção de produtos através de eletroforese capilar no seqüenciador automatizado apresenta sensibilidade e especificidade adequadas para a detecção de 11 diferentes vírus respiratórios em amostras de lavado nasofaríngeo, capaz de ser utilizado para estudos de larga escala.

Descritores: Virologia. Técnicas e procedimentos de laboratório. Infecções respiratórias. Reação em cadeia por polimerase

2011

Mecca JN. Avaliação de testes sorológicos para a detecção de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii como ferramentas para controle da qualidade de cortes comerciais de carne (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2011.

A toxoplasmose é uma zoonose de alta prevalência mundial, causada pelo *Toxoplasma gondii*. A ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos viáveis do parasita é uma das principais formas de sua transmissão. No Brasil, não há um programa sanitário de monitoramento para detecção do *T. gondii* em cortes comerciais de carne. Os métodos parasitológicos para detecção de cistos como PCR ou bioensaio em camundongos apresentam limitações devido ao longo tempo de execução e à distribuição não homogênea de cistos na carne, podendo ocasionar resultados erráticos. Neste trabalho, padronizamos um ensaio imunoenzimático (ELISA), a partir de amostras de modelos experimentais de infecção em coelhos, utilizando o exsudato cárneo, material obtido pelo descongelamento da carne, para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em produtos cárneos. As amostras de exsudato foram ensaiadas após a correção da concentração de sangue, previamente determinada por absorvância a 540nm, que apresentou alta correlação ($r^2=0.9433$), sendo proporcional à quantidade de sangue presente nos exsudatos. Todas as amostras foram pareadas com os respectivos soros. A especificidade antigênica dos anticorpos no exsudato cárneo foi confirmada por western blotting e a presença de cistos de *T. gondii* nas amostras foi avaliada por PCR e histologia. Padronizamos ainda, um teste de aglutinação modificado (MAT), que, por ser mais rápido e sem reagentes espécieespecíficos, seria factível em situações de campo. Uma vez padronizados os testes, ensaiamos um total de 81 amostras de exsudatos cárneos, sendo 74 provenientes de cunicultura comercial. Tanto o ELISA como o MAT apresentaram resultados similares entre as amostras de soro e os respectivos exsudatos, com alta reprodutibilidade, independentemente do tempo e ciclos de congelamento - descongelamento da carne.

A prevalência de IgG anti-*T. gondii* encontrada no ELISA das amostras comerciais foi de 1,35% (1/74), com detecção de cistos por PCR na amostra positiva. Os resultados do MAT apresentaram uma boa concordância (Kappa=88,24%, $p<0,001$) com o ELISA que foi o padrão ouro, com valores de sensibilidade de 80% (IC 95%, 29,9 - 98,9), especificidade de 100% (IC 95%, 94,0 - 100,0), valor preditivo positivo de 100% (IC 95%, 39,6 - 100,0) e valor preditivo negativo de 98,7% (IC 95%, 92,0 - 99,9). Entretanto, 50% das amostras dos animais experimentalmente infectados não tiveram cistos detectados por PCR e nenhuma amostra apresentou cistos visíveis em histologia, demonstrando uma menor sensibilidade dessas técnicas em relação às técnicas sorológicas. Portanto, nossos resultados mostram a importância desta abordagem diagnóstica utilizando o exsudato cárneo, como ferramenta para controle da qualidade da carne destinada à comercialização, contribuindo diretamente com a prevenção da infecção humana e elucidação de surtos epidêmicos transmitidos pela ingestão de carne contaminada.

Descritores: Toxoplasmose. *Toxoplasma gondii*. Exsudato cárneo. Doenças transmitidas por alimentos. Segurança alimentar (controle de qualidade). Testes sorológicos.

Nascimento MS. Anticorpos anti vimentina em soro de pacientes com doença de Chagas (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2011.

A presença de parasitas circulantes é característica da fase aguda da doença de Chagas, sendo ausente na fase crônica, na qual mecanismos da resposta imune controlam o reaparecimento da parasitemia. Nessa fase, o quadro mais grave é a cardiomiopatia dilatada, na qual há indicação para transplante cardíaco, cujos resultados tem se mostrado superiores aos de pacientes não chagásicos.

Há alguns anos, o MMF (micofenolato de mofetil) foi incluído no protocolo de imunossupressão de pacientes transplantados em substituição a AZA (azatioprina) por apresentar resultados superiores, atribuídos principalmente à inibição do MMF na produção de anticorpos, que não ocorre com AZA. No entanto, o uso do MMF em transplante cardíaco de pacientes chagásicos foi descontinuado devido ao alto número (~80%) de pacientes que apresentaram reagudização da doença de Chagas, que ocorria em no máximo 10% dos pacientes com AZA.

O conjunto desses dados permite supor que a reagudização da doença de Chagas, com reaparecimento de parasitas circulantes, deve ser devida principalmente à inibição da produção de anticorpos anti-*T. cruzi* que ocorre nos pacientes tratados com MMF. Desta forma, seria importante avaliar as diferenças na resposta humoral pós- transplante dos pacientes chagásicos tratados com MMF (que reagudizavam) e dos tratados com AZA (que não reagudizavam). Também seria importante confirmar se os tratados com MMF não faziam anticorpos anti-*T. cruzi* “de novo”.

Um dos antígenos usados para avaliar inibição de síntese “de novo” de anticorpos em pacientes transplantados é a vimentina, alvo importante de anticorpos anti- endotélio. A presença de títulos altos de anticorpos anti vimentina nesses pacientes é associada à rejeição do enxerto. Foram então atribuídos efeitos patológicos a esses anticorpos, que se ligam à vimentina expressa na superfície de várias células, principalmente as envolvidas em processos inflamatórios e regenerativos. Entre esses efeitos estão indução de agregação plaquetária com formação de trombos, e problemas microvasculares decorrentes de alterações no endotélio. Interessantemente, esses e outros efeitos desses anticorpos ocorrem na forma cardíaca e digestiva da doença de Chagas.

O conjunto desses dados aliados ao da presença característica de auto- anticorpos com inúmeras especificidades nessa doença motivaram nosso interesse em investigar a presença de anticorpos anti vimentina em pacientes chagásicos, objetivo desse trabalho. Paralelamente, era preciso verificar se o próprio *Trypanosoma cruzi* poderia induzir formação de anticorpos anti vimentina no hospedeiro.

Diferentes formas do *T. cruzi* foram utilizadas como antígeno em reações de imunofluorescência (IFI) e Western Blotting (WB) com anticorpo monoclonal anti vimentina. Os resultados negativos dessas reações demonstraram que o *T. cruzi* não expressava vimentina ou outro antígeno com reatividade cruzada para vimentina. Por outro lado, esse anticorpo mostrou um aumento e redistribuição de vimentina em células LLC-MK2 infectadas com *T. cruzi*, por IFI.

O anticorpo anti vimentina mostrou também intensa reatividade com células HF4 (fibroblastos) por IFI. Soros de pacientes chagásicos também evidenciaram, com menor intensidade, estruturas com padrão compatível ao de proteínas de citoesqueleto dessas células.

Para pesquisa de anticorpos anti- vimentina, padronizamos um teste ELISA com vimentina comercial. Apenas um dos 40 soros de indivíduos não chagásicos foi positivo nesse teste (2,5%). Entre os 96 soros de indivíduos chagásicos, encontramos anticorpos anti vimentina em 87,8% (29/33) dos soros de pacientes crônicos com cardiopatia grave, 70,5% (12/17) com forma digestiva, 76,9% (20/26) na fase aguda e apenas 25% (5/20) nos assintomáticos. Esses dados indicam que, em indivíduos chagásicos, há uma associação da presença de anticorpos anti vimentina com presença de formas clínicas graves da doença de Chagas.

Descritores: Doença de Chagas. Vimentina. Autoanticorpos.

Silva IJ. Avidéz de IgG na Toxoplasmose: padronização do pH como caotrópico para quantificação direta de anticorpos de baixa avidéz (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2011.

A toxoplasmose é uma protozoose altamente prevalente que atinge pelo menos um bilhão de indivíduos no mundo. A infecção causada pelo *Toxoplasma gondii* é benigna e assintomática, mas pode causar perdas visuais ou morte em fetos e pacientes imunossuprimidos. Isto pode ser controlado com diagnóstico e instituição de tratamento, mas depende da determinação de infecção ativa ou recente. O diagnóstico parasitológico é complexo, demorado e só executado em poucos centros, sendo a sorologia específica essencial no diagnóstico da doença. A avidéz de anticorpos IgG tem sido utilizada para determinação da infecção recente, porém os testes convencionais de avidéz só permitem uma estimativa indireta destes anticorpos a partir dos anticorpos totais e os de alta avidéz. A quantificação destes anticorpos de baixa avidéz seria interessante devido aos altos títulos na fase aguda da infecção ou como marcadores da atividade da doença. Padronizamos um ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando o pH como agente caotrópico, para permitir a determinação e quantificação dos anticorpos de baixa avidéz. Na padronização utilizamos amostras de soro de coelhos experimentalmente infectados ou amostras do banco de material biológico do Laboratório de Protozoologia do IMTSP. Nossos resultados mostraram que pH 3,5 apresentou poder caotrópico semelhante a uréia 6M ($r^2= 0,9909$), e que nos soros experimentais, os anticorpos de alta avidéz foram resistentes aos dois caotrópicos associados. Os anticorpos recuperados na eluição com pH 3,5 ou Ureia eram semelhantes quanto a especificidade antigênica por imunomarcção ou Western Blot. A neutralização do anticorpo eluído por pH permitiu seu reensaio por ELISA após 1 hora de renaturação, com a quantificação direta dos anticorpos de baixa avidéz. A reprodutibilidade intra e inter teste foi superior a 95%, embora com resultados piores para o pH 3,5. Uma vez padronizada a reação, foram analisadas 150 amostras de soros humanos com sorologia e avidéz conhecidas, composta por grande maioria de soros de alta avidéz. As medidas de avidéz por porcentagem mostraram um resultado errático, atribuído ao uso de grande maioria de anticorpos de alta avidéz, embora a medida dos anticorpos recuperados mantivesse correlação com estimativa a partir da medida indireta ($r^2= 0.48$). Esta abordagem permite a determinação direta dos anticorpos de baixa avidéz, que são os anticorpos inicialmente produzidos em um desafio antigênico. Nosso ensaio é semelhante ao imunológico, já que a apresentação de antígenos por exossomos ácidos de células dendríticas foliculares no centro germinativo parece ser o sistema de seleção de clones produtores de anticorpos de alta avidéz. As perspectivas futuras de uso da medida dos anticorpos de baixa avidéz na toxoplasmose são imensas, desde a relação com a gravidade da doença, pela sua quantidade, ou da presença de infecção recente, principalmente em infecção congênita ou e em imunossuprimidos, ou a reatividade da doença crônica, como na toxoplasmose ocular.

Descritores: *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmose. Avidéz de IgG. ELISA. Teste sorológico. Caotrópico.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-27092011-110151/pt-br.php>

2012

Carvalho CA. Estudo da presença e influência de antígenos parasitários na sorologia da Leishmaniose visceral (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A Leishmaniose visceral é uma doença parasitária crônica em homens e cães, causada por protozoários da espécie *L. (L.) chagasi*. O diagnóstico parasitológico é confirmado pelo achado do agente em aspirados de medula óssea, linfonodo, baço e fígado, enquanto que a sorologia IgG específica é usada em geral para estudos epidemiológicos, apesar dos altos níveis séricos de anticorpos IgG anti-*Leishmania*. Existem relatos anedóticos de resultados sorológicos negativos em doença ativa, atribuído à formação de imunocomplexos. Dado que imunocomplexos podem ser dissociados por tratamento ácido, nós buscamos a padronização de um teste simples de dissociação ácida dos imunocomplexos de amostras de soro, por tratamento ácido e neutralização em poços adsorvidos com antígenos de *Leishmania*, seguida de ELISA (ELISA dissociativo). A confirmação da presença de antígenos foi realizada pela detecção após adsorção ácida por DOT-ELISA, usando soro de coelho hiperimune anti-*Leishmania*. Amostras de hamsteres infectados experimentalmente com *L. (L.) chagasi* mostraram a presença e interferência de imunocomplexos na sorologia principalmente nas fases iniciais da infecção, por ELISA dissociativo e DOT-ELISA. Em amostras maiores de áreas endêmicas, o ELISA dissociativo aumentou a soropositividade em 10% em amostras de cães negativas e 3,5% em amostras humanas negativas, com confirmação por DOT-ELISA. Os resultados mostram que este teste poderia ser usado no diagnóstico da LV, como abordagem alternativa para a identificação sorológica de casos assintomáticos e para indicação de métodos parasitológicos invasivos confirmatórios.

Descritores: Leishmaniose visceral. Complexo antígeno-anticorpo. ELISA.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-21022014-112702/pt-br.php>

Branco MRFC. Fatores de risco associados a óbito em crianças brasileiras com dengue grave: um estudo caso-controle (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A dengue é um importante problema de saúde pública, responsável por cerca de 25.000 mortes anuais em áreas subtropicais do mundo. Desde 2001, há uma tendência de aumento da incidência de formas fatais de febre hemorrágica da dengue (FHD) no Brasil, com aumento dramático de casos graves em menores de 15 anos de idade a partir de 2007, especialmente na região nordeste do país. O objetivo deste estudo caso-controle foi avaliar fatores de risco associados a óbito em crianças com dengue grave. Avaliamos a condição clínica de pacientes internados que morreram de dengue (n=18) e comparamos com pacientes internados com dengue grave que sobreviveram (controles, n=77). Os pacientes incluídos no estudo foram menores de 13 anos de idade internados em hospitais de São Luís, nordeste do Brasil, com diagnóstico laboratorial confirmado de dengue. O diagnóstico de infecção aguda de dengue foi confirmado pela detecção de anticorpos IgM específicos de dengue através do MAC-ELISA (IgM Antibody Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ou pela detecção do DENV em soro, sangue ou víscera pela técnica de Transcrição Reversa – Reação em Cadeia de Polimerase (RT-PCR). Sinais de choque descompensado (extremidades frias, cianose e letargia) e hemoptise foram fortemente associados a óbito, o que está de acordo com a mais recente classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) para dengue grave. Epistaxe e vômitos persistentes também foram fortemente associados a óbito. Embora incluídos na mais recente classificação de dengue da OMS como sinais de alarme, epistaxe e vômitos incoercíveis não estão incluídos na definição da OMS para dengue grave. Estes achados necessitam ser explorados em estudos posteriores. Como unidades de terapia intensiva são frequentemente limitadas em cenários com poucos recursos, qualquer informação que possa distinguir, dentre os pacientes com dengue grave, aqueles com maior risco de evolução a óbito, pode ser crucial.

Descritores: Dengue. Crianças (mortalidade). Fatores de risco. Brasil. Prognóstico. Estudos de casos e controle.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-21022014-102109/pt-br.php>

Ekman CCJ. Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana: revisão sistemática de surtos epidêmicos (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, altamente prevalente na população humana e animal. A doença é geralmente benigna e autolimitada, mas pode ocasionar déficits visuais graves em cerca de 2 a 3% dos indivíduos acometidos, e ainda, assumir formas graves e letais em pacientes imunossuprimidos e em fetos de gestantes com infecção aguda. As principais formas de transmissão da doença são o consumo de água e alimentos crus contaminados com oocistos e a ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais do *Toxoplasma gondii*. Na literatura há relatos de vários surtos epidêmicos de toxoplasmose humana, porém a análise descritiva destes surtos é pontual e restrita, com informações isoladas em relação ao período de incubação e gravidade dos sintomas que poderiam estar relacionados à forma infectante do agente. No presente trabalho analisamos a influência da forma infectante do *T. gondii* no quadro da doença aguda humana, através de revisão sistemática das principais bases de dados bibliográficos na área de Saúde Pública (Cochrane, Embase, Food Sciences & Tech Abstracts, Lilacs, PubMed, Scopus e Web of Science), além de publicações em boletins epidemiológicos (Boletim Epidemiológico Paulista, Boletim Eletrônico Epidemiológico – SVS) e anais de congressos nacionais e internacionais de áreas correlatas. As pesquisas nas bases de dados bibliográficos foram realizadas utilizando idiomas em português e inglês para os termos: surtos de toxoplasmose humana (human toxoplasmosis outbreak). Os critérios de inclusão dos estudos levaram em consideração artigos e resumos que relatassem surtos epidêmicos de toxoplasmose humana com descrição da forma infectante do agente e quadro clínico da doença. Na busca eletrônica inicial, foram obtidos 431 artigos referentes a surtos mundiais e nacionais de toxoplasmose humana, provenientes de diferentes formas de transmissão da doença, porém foram elegíveis para o trabalho somente 33 artigos, incluindo um surto ocorrido recentemente na região de Araraquara, Estado de São Paulo, cuja investigação epidemiológica foi conduzida por nossa equipe. A análise da revisão sistemática sugere que o número de casos confirmados nos surtos é maior quando a transmissão ocorre por oocistos, sendo o solo e a água associados a esta forma de transmissão. Quanto aos achados clínicos, a infecção por cistos parece induzir um período de incubação menor do que o observado para oocistos. Não houve relação da forma infectante com o sexo predominante e faixa etária nas populações amostrais. Os surtos foram descritos mais frequentemente nas Américas que em outros continentes. Estes dados sugerem que a forma infectante do *T.gondii* interfere no quadro da toxoplasmose aguda.

Descritores: Toxoplasmose. *Toxoplasma gondii*. Surto epidêmico. Doenças transmitidas por alimentos. Doenças transmitidas pela água. Revisão sistemática.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-02042013-203333/pt-br.php>

Fontoura PS. Soroprevalência, análise espacial e fatores associados ao *Toxocara* spp. em crianças de Acrelândia, Acre, Amazônia Ocidental Brasileira (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A infecção em seres humanos por larvas de nematódeos do gênero *Toxocara* é uma antropozoonose endêmica em diversas localidades com prevalências superiores a 50% em diferentes grupos populacionais, tanto em países em desenvolvimento como nos desenvolvidos. O presente estudo avaliou a prevalência, distribuição espacial e fatores associados ao *Toxocara* spp. em crianças residentes em área urbana de Acrelândia, Acre, Amazônia Ocidental Brasileira. Conduziu-se um estudo transversal de base populacional com 1112 crianças <11 anos de idade. Informações socioeconômicas e demográficas foram obtidas por meio de questionário estruturado. Medidas antropométricas e coleta de amostras biológicas (sangue e fezes) foram realizadas pela equipe de pesquisa. A avaliação de soroprevalência da infecção por *Toxocara* spp. utilizou o método imunoensaio enzimático (ELISA). Registraram-se as coordenadas geográficas pontuais de todos os domicílios participantes do inquérito para análise espacial de varredura. Razões de prevalência (RP; intervalo com 95% de confiança, IC95%) para fatores associados à antropozoonose foram estimadas por regressão de Poisson com seleção hierárquica das variáveis independentes. Verificou-se soroprevalência geral de 38% para anticorpos IgG anti-*Toxocara* spp.; crianças ≥ 5 anos de idade apresentaram sororeatividade estatisticamente significativa em relação aos de menor faixa etária (RP, 1,7; IC 95%, 1,44-2,00). Ausência de tratamento para água de beber (RP, 1,38; IC95%, 1,11-1,71), deficiência de vitamina A (RP, 1,47; IC 95%, 1,22-1,78) e presença de geo-helintos (RP, 1,57; IC 95%, 1,25-1,98) foram positivamente associados à soropositividade para a nematódeo. Em contrapartida, maior quarto do índice de riqueza domiciliar (RP, 0,65; IC 95%, 0,51-0,83) e maior escolaridade materna (RP, 0,71; IC 95%, 0,58-0,88) foram inversamente associados à infecção pelo *Toxocara* spp. Presença de cão e/ou gato nas residências não foi associada à infecção pelo nematódeo. Análise espacial detectou distribuição aleatória nos casos sororeagentes para *Toxocara* spp. na área investigada. Os resultados indicam que a sororeatividade observada no presente estudo é semelhante àquelas encontradas previamente na região da Amazônia Brasileira, mas superiores às observadas nas regiões sul e sudeste do país e em outros países. A identificação de fatores associados à soropositividade pelo nematódeo, combinada com a análise de sua distribuição espacial permitiu a identificação de grupos populacionais prioritários para intervenções no município estudado.

Descritores: *Toxocara* spp. Crianças. Inquérito transversal. Análise espacial. Amazônia Ocidental Brasileira.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-25052012-133350/pt-br.php>

Galiano CM. Aplicação do Western Blotting como método suplementar para confirmar a presença de anticorpos IgG e IgM anti-*Treponema pallidum*, em resultados discrepantes ou de valor clínico duvidoso na sorologia da sífilis (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

Apesar de apresentar eficiência terapêutica bem definida a sífilis continua sendo um problema de saúde pública mundial, especialmente a doença congênita que, associada a problemas sociais e culturais, apresenta em muitos países índices acima do estabelecido pela OMS para o seu controle. Identificar e tratar gestantes com sorologia reagente é uma recomendação dos programas de controle de DST.

Nos serviços de hemoterapia, as últimas portarias do Ministério da Saúde definem que para a triagem sorológica de doadores de sangue podem ser usados testes treponêmicos ou não treponêmicos de alta sensibilidade. Métodos imunoenzimáticos, de detecção de anticorpos treponêmicos, com diferentes princípios técnicos passaram a ser utilizados na triagem dos doadores de sangue, em substituição ao VDRL, por automatizarem os serviços e sendo parte integrante dos outros sistemas utilizados para triagem de doenças passíveis de serem transmitidas pelo sangue. Nos serviços de hemoterapia que utilizam dois testes de princípios diferentes, observamos grande discrepância de resultados. Seguindo a mesma idéia do consenso estabelecido para a doença de Chagas, aplicamos o Western blotting na pesquisa de anticorpos IgG anti-*Treponema pallidum* (WBTpIgG), como teste suplementar, para elucidar e confirmar os resultados discrepantes.

Foram analisadas 400 amostras de soros de doadores de sangue (grupo G1) previamente triadas no banco de sangue por teste treponêmico, ELISA 1 e posteriormente analisadas por VDRL, teste imunoenzimático, ELISA 2 e hemaglutinação indireta, TPHA. Obtivemos 364 (91%) amostras de soros reagentes por VDRL, 350 (87,5%) amostras de soros reagentes por ELISA 2 e 212 (53%) amostras de soros reagentes por TPHA. O WBTpIgG aplicado nas amostras de soros do grupo G1, para confirmar a presença de anticorpos IgG, mostrou reatividade de 49,75% (199 amostras de soros reagentes). A concordância entre todos os testes convencionais ocorreu em 198 amostras de soros, sendo 164 confirmadas por WBTpIgG.

Também aplicamos o WBTpIgM em serviços de neonatologia, para complementar informações que pudessem ser uteis na definição de doença congênita, em 58 amostras pareadas de soros de mães e recém nascidos (grupo G2) com suspeita de sífilis.

Das 29 amostras de soros dos recém-nascidos, apenas três (10,34%) foram reagentes, confirmando a doença congênita e orientando os clínicos no seguimento dos recém-natos. Pelos resultados obtidos, podemos concluir que o WB poderá ser incluindo na rotina dos bancos de sangue, para confirmar sorologia reagente, evitando descarte desnecessário de bolsas de sangue e nos serviços de neonatologia para confirmar sífilis congênita.

Descritores: Sífilis. Western blotting. Doação (sangue). Doenças congênitas. Testes imunológicos. Serologia.

Gattás VL. Avaliação da efetividade da vacina contra influenza em escolares do município de São Paulo, 2009 (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

As crianças e adolescentes desempenham um papel importante na manutenção da transmissão da influenza. Além disso, com a ocorrência de influenza neste grupo da população verificam-se consequências socioeconômicas importantes às famílias acometidas pela doença, relacionadas ao absenteísmo, gastos com serviços de saúde e uso de medicamentos. O presente estudo apresenta a avaliação da efetividade direta e indireta da vacinação contra influenza em crianças de idade escolar e seus contatos domiciliares não vacinados. Ele foi realizado, no ano de 2009, na cidade de São Paulo - Brasil, por meio de ensaio comunitário aleatorizado duplo-cego, com acompanhamento de seis meses de duração. Para avaliação da efetividade da vacina, utilizou-se a vacina influenza para o grupo experimental, e as vacinas meningite conjugada e varicela para o grupo controle. Após a vacinação, os voluntários e suas famílias foram acompanhados durante seis meses, com o intuito de identificar casos de Infecção Respiratória Aguda (IRA) e de coletar amostras biológicas para a realização de testes com PCR em Tempo Real (PCR-RT) para diagnóstico de influenza. Ao final do estudo foi descrita a ocorrência de IRA e de influenza confirmada laboratorialmente (ICL). A efetividade da vacina na proteção de infecção pelo vírus da influenza foi de 61% (IC 95%, 5,76; 84,73) para os contatos domiciliares, e de 71% (IC 95% 11,99; 92,03) para os contatos domiciliares maiores de dez anos de idade. Nenhum evento adverso grave foi notificado. Portanto, o estudo conclui que a vacinação de escolares com a vacina contra influenza protegeu, significativamente, os seus contatos domiciliares contra influenza sazonal.

Descritores: Influenza. Vacinação. Vacinas. Crianças em idade escolar. Efetividade. Estudos de intervenção. Adolescentes.

Geraldi MP. Pesquisa sentinela da introdução do vírus do Oeste do Nilo no Brasil pela análise de doadores de sangue do Amazonas e Mato Grosso do Sul (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

O vírus do Oeste do Nilo (VON) é um Flavivírus capaz de infectar muitas espécies de vertebrados, incluindo o homem. Embora reconhecida desde 1940, esta virose nunca havia sido descrita nas Américas, onde emergiu nos Estados Unidos ao final da década de 1990, com numerosos casos de meningoencefalite em humanos. Posteriormente, sua transmissão por transfusão de sangue e órgãos foi comprovada, levando à implantação de testes moleculares (NAT) para a triagem de doadores nos EUA e Canadá a partir de 2003. Nos anos seguintes, o VON foi sendo progressivamente detectado em países como México, Panamá e áreas do Caribe, sugerindo sua iminente introdução na América do Sul. De fato, evidências sorológicas foram reveladas em cavalos e aves na Colômbia, Venezuela, Argentina e muito recentemente no pantanal mato-grossense (em cavalos). A vigilância epidemiológica para este agente é de grande importância para a saúde pública, visto o potencial de morbimortalidade deste vírus para humanos. Sendo assim este trabalho tem o objetivo de investigar a presença do RNA do VON em amostras de doadores de sangue, pacientes com meningoencefalite ou febre de origem indeterminada e soros e amostras cerebrais de equinos. Foram analisadas 2.202 doações de sangue do Amazonas (HEMOAM), 3.144 do Mato Grosso do Sul (HEMOSUL); líquido cefalorraquidiano de 51 pacientes com suspeita de meningoencefalite viral (Hospital das Clínicas/FMUSP, São Paulo) e soro de 198 pacientes com síndrome febril aguda, negativos para Dengue e Malária (Fundação de Medicina Tropical de Manaus). Além disto, 293 amostras de soros de equinos da região do Pantanal e 63 biópsias de tecido cerebral de cavalos que foram a óbito por encefalite de etiologia desconhecida. Estas amostras foram submetidas ao teste automatizado cobas TaqScreen WNV (Roche) na plataforma cobas s201 em sistema de *pool* de 6 unidades (doações de sangue) ou individualmente (pacientes). Todas as amostras apresentaram amplificação satisfatória do controle da reação, porém nenhuma apresentou resultado positivo para a presença do RNA do VON. Embora já exista evidência da exposição de equinos no Brasil ao VON, não parece haver até o momento, disseminação importante deste agente entre humanos e equinos, uma vez que o RNA viral não foi detectado nem em doadores de sangue e nem em equinos, incluindo os de cidades próximas aos locais onde cavalos soropositivos foram encontrados (Corumbá – MS).

Descritores: Vírus do Oeste do Nilo. Reação em cadeia por polimerase. Doação (sangue). Equinos. Flavivirus.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-06092013-104445/pt-br.php>

Guimarães LO. Análise da diversidade genética de isolados brasileiros de *Plasmodium malariae* (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

Plasmodium malariae é um parasita protozoário que causa malária em humanos e é geneticamente indistinguível de *P. brasilianum*, um parasita que infecta macacos do Novo Mundo nas Américas do Sul e Central. *P. malariae* possui uma ampla distribuição mundial em regiões tropicais e subtropicais, porém de forma pontual, sendo encontrado na América do Sul, Ásia e África. Entretanto, pouco se sabe sobre a genética destes parasitas e a similaridade entre eles pode ser devido ao pequeno número de sequências genômicas disponíveis para essas espécies de *Plasmodium*. Recentemente, seis marcadores microssatélites e a sequência completa do gene que codifica a proteína de superfície do merozoíta 1 (MSP1) foram descritos para estes parasitas. Neste estudo, o polimorfismo genético de 24 isolados brasileiros de *P. malariae* e *P. brasilianum* obtidos de diferentes hospedeiros foi analisado através da utilização desses marcadores microssatélites e da região correspondente ao oitavo bloco da MSP1. Os dados epidemiológicos moleculares foram explorados em relação à origem geográfica e hospedeiros, fornecendo perspectivas para o relacionamento evolucionário e filogenético de *P. malariae* e *P. brasilianum*. Para todos os marcadores estudados, as amostras de símios apresentaram um polimorfismo mais elevado que as amostras humanas. Na análise de microssatélites, as amostras humanas foram polimórficas em apenas dois alelos, enquanto as amostras de símios foram polimórficas em cinco alelos. O alelo Pm42-331 foi monomórfico em todas as amostras analisadas. Na análise do bloco 8 da MSP1, as amostras símias foram altamente polimórficas e as amostras humanas apresentaram quatro tipos alélicos, sendo que dois tipos alélicos (A5 e A7) foram encontrados em alta frequência (90%). Em ambas as análises, a amostra de mosquito foi mais similar a amostras simianas. Nossos dados também mostram que há uma possível ausência de dimorfismo alélico na MSP1 de *P. malariae* e *P. brasilianum*, ao contrário de outras espécies de *Plasmodium*. Pela primeira vez, amostras de humanos, símios e mosquito foram analisadas em conjunto e utilizadas para o primeiro estudo de polimorfismos genéticos de isolados de *P. malariae* e *P. brasilianum* do Brasil.

Descritores: Malária. *Plasmodium*. Diversidade genética.

Kesper Júnior N. Caracterização antigênica de moléculas de *Leptomonas seymouri* reativas com anticorpos anti *Leishmania spp* e anti *T. cruzi* (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

Parasitas da família trypanosomatidae como dos generos Crithidia, Blastocrithidia, Leptomonas, Hepertomonas e Rhynchoidomona infectam insetos e Phytomonas parasitam plantas. O *T. cruzi* e *L. (L.) chagasi*, agentes etiológicos respectivamente da doença de Chagas e da leishmaniose visceral (LV) também fazem parte desta família. Pela similaridade entre estes parasitos alguns estudos têm utilizado os tripanosomatídeos não patogênicos como fonte alternativa de antígenos para o imunodiagnóstico da doença de Chagas e da leishmaniose. Com o objetivo de identificar moléculas em tripanosomatídeos não patogênicos que reagem com anticorpos anti *T. cruzi* e anti *Leishmania sp*, foram utilizados dois preparados antigênicos: a fração excretada-secretada (ES) e o extrato total obtido por digestão química (ET) de *L. seymouri*, *C. deanei*, *C. fasciculata* e *C. luciliae*, sempre comparados com o *T. cruzi* e a *L. (L.) chagasi*. A reatividade diferencial entre anticorpos anti *T. cruzi* e anti *L. (L.) chagasi* levou à escolha da *L. seymouri*, único parasito no qual a fração ES mostrou significativas diferenças de reatividade, a *C. deanei* apresentou dados semelhantes. Anticorpos presentes em casos de LV reagem, por ELISA, tanto com ES como com ET de *L. seymouri*, no entanto casos de leishmaniose tegumentar e a maioria dos chagásicos não apresentaram reação com a fração ES deste parasito, apesar de reagirem com o antígeno ET. O ELISA mostrou que os anticorpos anti *L. (L.) chagasi* reagem mais com proteínas contidas no ES e menos com carboidrato, ao contrário a baixa reatividade dos anticorpos anti *T. cruzi* para o ES são preferencialmente contra carboidratos. Quando as frações de ES e ET foram analisados por Immunoblotting o anti- *L. (L.) chagasi* não reagiu com nenhuma banda por esta metodologia, ao contrário anticorpos anti- *T. cruzi* apresentaram intensa reação com bandas na região de 29-36kDa do ET de *L. seymouri*, que foram identificadas como sendo moléculas de proteínas e de carboidratos (66-97kDa) para o ES. A utilização de soros policlonais monoespecíficos mostra que ES e ET possuem epítomos compartilhados e a quantificação deste compartilhado foi calculado utilizando anticorpos monoespecíficos eluídos de ES ou ET. Estes resultados mostraram que a identificação de moléculas reativas de *L. seymouri* por anticorpos presentes em chagásicos e leishmanióticos sp depende da metodologia empregada versus preparado antigênico. A superioridade das moléculas contidas no parasito de *L. seymouri* foi adicionalmente evidenciada quando 25,5% das amostras de soros de VL que apresentavam baixa reatividade para o ET de *L. chagasi*, Abs 492nm menores que 0,99 e média e SD de 0,56 ? 0,18 apresentavam alta reatividade para o ET de *L. seymouri* ($p < 0,01$) com média e SD de 1,51 ? 0,35. Estes dados nos indicam que uma caracterização mais profunda das moléculas presentes na *L. seymouri* é de vital importância se for empregada no imunodiagnóstico das doenças de Chagas e leishmaniose.

Descritores: Reatividade cruzada. *Trypanosoma cruzi*. *Leishmania chagasi*. Tripanosomatídeos. Antígenos excretados secretados. *Leptomonas seymouri*.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-08012013-101428/pt-br.php>

Pinto EG. Isolamento, caracterização e atividade anti-leishmania e anti-*Trypanosoma cruzi* de compostos bioativos de venenos de anfíbios brasileiros (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

Dentre as doenças parasitárias tropicais, as causadas por protozoários se apresentam como um grande desafio para a saúde pública, sendo representadas pela leishmaniose e doença de Chagas. Afetam grandes populações marginais ao processo econômico globalizado, e desta forma, não são vistas como mercados potenciais. O presente projeto visou o isolamento de novos compostos naturais de venenos animais com atividade anti-Leishmania e anti-*T. cruzi*. O presente estudo fracionou por diferentes técnicas cromatográficas, os venenos dos anfíbios *Siphonops annulatus*, *Corythomantis greeningi*, *Aparasphenodon brunoi* e *Phyllomedusa hypochondrialis*, visando o isolamento de peptídeos e metabólitos secundários através de ensaios biomonitorados. Utilizando-se a espectrometria de massas e seqüenciamento por degradação química de Edman, foi possível a caracterização bioquímica de cinco peptídeos ativos da secreção de *Phyllomedusa hypochondrialis*, sendo estes a bradiginina, as dermaseptinas 1 e 4 e as filoseptinas 7 e 8. Os peptídeos apresentaram uma Concentração Efetiva 50% (CE50) variando entre 0,7 a 20 µg/mL em *L. (L.) infantum chagasi* e *T. cruzi*, com baixa ou nenhuma citotoxicidade para células de mamíferos nas concentrações testadas. Além disso, a separação química da secreção do anfíbio *Siphonops annulatus* forneceu uma fração altamente ativa em promastigotas de *L. (L.) infantum chagasi*, com CE50 0,065 µg/mL, porém com toxicidade bastante elevada para macrófagos peritoneais e nenhuma seletividade nas formas intracelulares. Estudos ultraestruturais de *Leishmania* demonstraram severos danos mitocondriais, além da formação de grandes vacúolos citoplasmáticos, levando o parasita a morte em poucas horas. O presente estudo demonstrou o potencial de peptídeos e metabólitos secundários de venenos de anfíbios, que se adequadamente estudados, poderão contribuir como novos protótipos de fármacos para a doenças negligenciadas.

Descritores: Anfíbios. Venenos. Peptídeos. Leishmaniose visceral. Doença de Chagas. Fármacos.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-31012014-154317/pt-br.php>

Sampaio BFC. Desenvolvimento de ensaios imunoenzimáticos para otimização da detecção de IgG anti-*T. gondii* em saliva humana (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A Toxoplasmose é uma zoonose de alta prevalência que atinge cerca de um bilhão de pessoas no mundo. A doença é geralmente assintomática, mas pode afetar o homem através de perdas visuais ou afecções graves e letais em fetos e pacientes com deficiência imunológica, como portadores de AIDS e transplantados. Em razão da alta prevalência da infecção, a determinação da incidência da doença é mais precisa nas populações mais jovens como crianças. A detecção de anticorpos é a principal ferramenta no diagnóstico da toxoplasmose, porém os métodos disponíveis estão voltados para a pesquisa de anticorpos em amostras de soro, com poucos relatos sobre a utilização de material biológico de outra natureza, como a saliva. A saliva tem obtenção que independe de procedimento invasivo, o que é perfeitamente aceitável para crianças, e contém pequena proporção de soro, proveniente das mucosas e do líquido crevicular da gengiva, podendo ser um material alternativo como fonte de IgG para uso em testes convencionais. Contudo, os métodos empregados para pesquisa de IgG em saliva não levam em consideração a variação do conteúdo de IgG em cada amostra de saliva. Além disso, as técnicas utilizadas necessitam da concentração da saliva e um grande volume inicial de amostra (5ml). Novas técnicas de imunofluorimetria, micrométodos ou de aprimoramento de sistemas de detecção em ELISA têm sido desenvolvidas e o uso destas técnicas pode resultar em aprimoramento destes ensaios, permitindo a detecção em saliva sem concentração, ou em pequenos volumes. Testamos 100 amostras de saliva de universitários, a frequência da toxoplasmose nesse grupo foi 19% (IC 95% 12-28%). Nossos testes imunoenzimáticos para detecção de IgG em saliva é uma ferramenta muito promissora para o uso em estudos epidemiológicos da toxoplasmose em crianças ou outros grupos protegidos.

Descritores: Toxoplasmose (diagnóstico). Detecção de IgG. Proteína A. Saliva. Imunoensaio. dot-ELISA.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-08012013-154837/pt-br.php>

Silva DC. Avaliação da densidade mineral óssea em indivíduos vivendo com HIV/AIDS (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

Redução da densidade mineral óssea tem sido descrita como uma complicação clínica entre as pessoas vivendo com HIV/AIDS. Entretanto não há dados descrevendo essa alteração entre os pacientes brasileiros. Nosso objetivo foi investigar a prevalência de baixa densidade mineral óssea entre pessoas vivendo com HIV/AIDS na cidade de São Paulo. Nós estudamos 108 pacientes infectados pelo HIV (78 homens e 30 mulheres). Foram utilizados neste estudo dados secundários. Os dados foram originalmente coletados com o objetivo de acompanhamento de rotina dos pacientes na clínica e para este estudo estes dados foram coletados dos prontuários médicos. Todos os pacientes foram submetidos ao exame de densitometria óssea, que é uma técnica radiológica que mensura a densidade mineral óssea. Os pacientes foram classificados como tendo baixa densidade mineral óssea de acordo com a classificação da organização mundial da saúde que define osteopenia quando o T-score a partir de -1,1 e osteoporose quando T-score abaixo de -2,5 quando se tratava de homens e mulheres com idade acima de 50 anos. Quando homens e mulheres tinham idade até 50 anos, utilizamos a classificação da ISCO, neste grupo baixa densidade mineral óssea foi definida quando os pacientes apresentavam um Z-score abaixo de -2. Entretanto para este estudo ambas as classificações foram definidas como baixa densidade mineral óssea. A mediana de idade, tempo de infecção pelo HIV a partir da data do diagnóstico, tempo sob terapia antirretroviral, número de células linfócitos TCD4+ no momento da avaliação e Nadir foram similares entre homens e mulheres. A mediana de idade foi de 43 anos (intervalo interquartilico [Ii] 43-48 anos) e mediana de tempo de infecção pelo HIV foi de 3,66 anos (intervalo interquartilico [Ii] 1,72- 10,91 anos). Os pacientes tinham adquirido o HIV principalmente pela via sexual (homens que fazem sexo com home 46% e 50% eram heterossexuais). A mediana de células linfócitos TCD4+ foi de 399cél/mm³(intervalo interquartilico [Ii] 275 - 566,5). Vinte e cinco pacientes foram classificados como tendo baixa DMO (23,15%). Não houve associação estatisticamente significativa entre sexo, IMC, nadir e baixa DMO. Os fatores de risco associados à baixa DMO foram células linfócitos TCD4+ <350 células/mm³ idade acima de 50 anos e tabagismo (p=0,003; p= 0,001; p=0,002) respectivamente. Quando avaliamos HAART VS baixa DMO encontramos 14,28% de baixa DMO entre os que usavam HAART e 26,25% entre os que não usavam e essa diferença não foi estatisticamente significativa. Uma limitação de nosso estudo foi o tamanho de nossa amostra, coortes maiores talvez encontrem resultados diferentes. Contudo, nossos achados fortemente sugerem que a identificação de fatores de risco para baixa DMO e que são modificáveis são um importante componente no manejo desses pacientes para prevenção da baixa DMO e do risco de fratura atribuído a essa alteração. Portanto nossos resultados sugerem que esforços no sentido de encorajamento de cessação do tabagismo devem ser realizados e considerados um importante componente de qualquer programa de saúde dos indivíduos com HIV/AIDS. Identificar fatores de risco modificáveis pode contribuir para formulação de melhores políticas de saúde.

Descritores: HIV. Densidade óssea. Terapia antirretroviral. Síndrome de imunodeficiência adquirida. Brasil.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-30012014-102119/pt-br.php>

Targa LS. Estudo da carga parasitária e dos genótipos de *Toxoplasma gondii* na toxoplasmose congênita (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

O genótipo e a carga parasitária constituem dois dos principais fatores associados à patogênese na toxoplasmose congênita. Na Europa e nos EUA, o genótipo II é o mais prevalente em infecções congênitas, enquanto que na América do Sul existem evidências apontando uma maior frequência de genótipos atípicos ou recombinantes, associados a casos mais graves. A carga parasitária também parece atuar como fator de risco independente associado ao prognóstico fetal. Os objetivos do estudo foram padronizar uma amplificação quantitativa (qPCR) com iniciadores do gene B1 para avaliar a carga parasitária; determinar o genótipo parasitário por multiplex-nested-PCR-RFLP dos marcadores 5'-SAG2, 3'-SAG2, SAG3 e GRA6, seguido de sequenciamento para confirmação da RFLP e análise de mutações; e verificar se existiria associação entre a carga parasitária e os genótipos parasitários nas mesmas gestações. Foram analisadas 76 amostras de líquido amniótico de gestações com toxoplasmose e 31 amostras controle. A qPCR apresentou LOD de 10 parasitos/mL, detectou as 76 amostras de estudo e nenhum controle. As cargas parasitárias variaram de 222 a 808.328 parasitos/mL. Houve duas amostras com valores acima de 104 parasitos/mL, apesar de todas as gestantes serem tratadas. Na genotipagem, SAG3 amplificou 55 amostras (54 tipo III e uma tipo II); 5' e 3'-SAG2 amplificaram 54 amostras (todas tipo I), e GRA6, amplificou 20 amostras (todas tipo III). A única amostra com genótipo parasitário SAG3-tipo II foi a que apresentou mais mutações (n=4), carga parasitária de 958 parasitos/mL, porém o recém-nascido foi assintomático. Houve diferença do número de amostras amplificadas por SAG3, e 5' e 3'-SAG2 em relação a GRA6 (McNemar, $p < 0,001$). Os sequenciamentos confirmaram 100% dos resultados de RFLP, e foram encontradas 24 amostras com e 52 sem mutações, não existindo diferenças entre as cargas parasitárias dos dois grupos (Mann-Whitney, $p = 0,085$). Mais de uma mutação foi observada em cinco amostras. Foram detectadas 37 mutações no estudo: 26 heterozigotas/sinônimas e 11 homozigotas/sinônimas, não havendo regiões hot spot. Quanto à correlação clínico-laboratorial, dos 76 recém-nascidos, todos apresentaram IgM positiva ao nascimento, e 75 eram assintomáticos. O único recém-nascido sintomático apresentava tríade de Sabin e uma das duas cargas parasitárias mais elevadas do estudo (309.574 parasitos/mL), porém o genótipo não foi discriminante e não havia mutações. A outra amostra com carga parasitária acima de 104 parasitos/mL pertencia a recém-nascido assintomático, com genótipo não discriminante, e sem mutações. O estudo concluiu que a técnica de Real Time PCR (qPCR) foi padronizada com sucesso, usando os iniciadores B22 e B23 do gene B1 do parasito, podendo ser empregada na rotina diagnóstica. Além disso, foi possível realizar a genotipagem das amostras incluídas no estudo, com melhor desempenho de SAG3 e 5' e 3'-SAG2. O sequenciamento confirmou a confiabilidade da técnica de RFLP, e encontrou frequência elevada de mutações, todas sinônimas, sem regiões hot spot, e aparentemente sem associação com a carga parasitária. Houve elevada variabilidade das cargas parasitárias, porém grande homogeneidade dos genótipos parasitários, não tendo sido observada associação entre a carga parasitária e os genótipos de *T. gondii* no estudo.

Descritores: Toxoplasmose congênita. Técnicas de diagnóstico molecular. Reação em cadeia de polimerase. Reação em cadeia de polimerase em tempo real. Carga parasitária. Técnicas de genotipagem.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-06092013-152217/pt-br.php>

Vendrami DP. Estudos de sistemática molecular de colônias de Triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) utilizando genes mitocondriais (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A doença de Chagas afeta aproximadamente 8 milhões de pessoas em toda a América Latina e acredita-se que cerca de 18 milhões vivem em área de risco. Devido à falta de vacina, o controle da doença consiste na eliminação de populações domésticas do vetor triatomíneo. Analisar a utilização dos marcadores moleculares: 16S, Citocromo oxidase B e Citocromo oxidase 1 do DNA mitocondrial, em estudos filogenéticos e biogeográficos de Triatomíneos mantidos em colônias pelo Insetário de Triatominae da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP/Araraquara e de exemplares de *Triatoma brasiliensis* de campo. Foram analisadas sequências nucleotídicas de fragmentos dos genes 16S, Citb e CO1 do DNA mitocondrial. Nas populações de *Triatoma brasiliensis* provenientes do campo, foi observado a formação de dois agrupamentos distintos, um formado pelos espécimes de *T. brasiliensis brasiliensis* e outro por *T. brasiliensis macromelasoma*. No estudo com as populações de *Panstrongylus megistus* foi observado que as populações provenientes do estado de São Paulo se agrupam com populações provenientes tanto da região sul quanto da região nordeste do Brasil. As análises filogenéticas com fragmentos do gene 16S demonstraram a parafilia de Rhodniini e Triatomini, confirmando resultados anteriores. Os resultados mostraram a utilidade de 16S, CitB e CO1 como marcadores moleculares de espécies e de populações de triatomíneos e sua importância em questões de sistemática e taxonomia. Tendo um grande número de populações triatomínicas provenientes de diversos lugares da América, as colônias da UNESP/Araraquara revelaram-se importante fonte de material para estudos sistemáticos de triatomíneos.

Descritores: Triatominae. Marcador molecular. DNA mitocondrial. Doença de Chagas. Vetores. Filogenia.

2013

Aoki JI. Identificação de um gene que confere resistência a tubercidina em *Leishmania (Leishmania) major* (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

A identificação de genes relacionados com resistência a compostos antiparasitários tem contribuído para um melhor entendimento do mecanismo de ação de compostos antileishmania. Pouco se sabe sobre o mecanismo de ação do análogo de purina tubercidina (TUB) em *Leishmania*. Utilizando a estratégia de superexpressão após transfecção gênica, isolamos um locus de *Leishmania (Leishmania) major*, de 31 kb, capaz de conferir níveis de resistência quatro vezes maior que o parasita selvagem. Várias deleções desse locus foram geradas e a construção de 3 kb (pSNBR/3kbClaI-EcoRI) também conferiu níveis de resistência quando comparado ao parasita selvagem. Através de análises no genoma de *L. (L.) major*, localizamos esse locus no cromossomo 31 e, no fragmento de 3 kb, um gene que codifica para uma proteína com função desconhecida até o momento (LmjF.31.2010). Esta proteína foi relacionada com resistência a TUB em todas as linhagens transfectadas analisadas (cosTUB2 e pSNBR/3kbClaI-EcoRI), assim denominamos LmjF.31.2010, de proteína relacionada com resistência a TUB (PRRT). A quantificação relativa de transcritos de mRNA na construção pSNBR/3kbClaI-EcoRI apresentou níveis altos de transcritos da PRRT. Foram gerados ainda mutantes de *L. (L.) major* e *L. (L.) amazonensis* resistentes a TUB e estes se apresentaram bem adaptados a concentrações altas de TUB, apresentando razão de resistência maior que 200 vezes, quando comparado com os respectivos parasitas selvagens. A PRRT também foi relacionada na resistência a TUB nos mutantes gerados, pois houve amplificação gênica de prrt. Os resultados obtidos neste trabalho fornecem dados para inferir a importância da PRRT no mecanismo relacionado com resistência a TUB.

Descritores: *Leishmania*. Tubercidina. Purinas. Transfecção.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-21022014-151125/pt-br.php>

Cardoso DRR. Análise da técnica do inseto estéril (SIT) para controle de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: culicidae) (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Mosquitos *Culex quinquefasciatus* são vetores de diversos agentes patogênicos, como os responsáveis por doenças humanas como filariose linfática, arboviroses como as encefalites do tipo *St. Louis* (EUA), Venezuelana, e recentemente a encefalite do Nilo Ocidental onde os principais hospedeiros desses vírus são as aves. No Brasil, é o vetor primário da filariose bancroftiana, sendo capaz de se adaptar ao ambiente urbano, tornando-se praga e provocando incômodos imensuráveis à população. As medidas preventivas para o controle de populações de mosquitos mais utilizadas nas grandes cidades envolvem estratégias que implicam uso de barreiras físicas, manejo ambiental, controle químico e biológico desses insetos. A forma mais intensamente utilizada para o controle de populações desses insetos ainda é por meio de inseticidas de ação residual, custosa aos cofres públicos e de impacto negativo ao equilíbrio ambiental. Uma alternativa viável, que não agride o meio ambiente e que tem sido utilizada com sucesso no controle de pragas agrícolas é técnica do inseto estéril (SIT). A SIT se baseia na criação em massa, esterilização e liberação de grandes números de insetos machos estéreis em uma área alvo. Os machos liberados cruzarão com fêmeas selvagens, reduzindo o potencial reprodutivo da população selvagem e, portanto causando a redução da população nas gerações subsequentes. Se um número suficiente de machos estéreis for liberado por tempo suficiente, a população alvo entrará em colapso, levando à sua supressão ou erradicação desta. O objetivo geral deste estudo foi analisar a técnica do Inseto Estéril (SIT) para controle de *Cx. quinquefasciatus*. Foram realizados testes de efeito da dose em pupas machos irradiadas com doses de irradiação gama (Co^{60} , de 25 a 200 Gy), para determinação da dose efetiva para a esterilização do inseto. Foram selecionadas as doses de 50, 75 e 100 Gy para padronizar o método de radiação dos machos com o objetivo de obter machos estéreis com competência para acasalamento com fêmeas em campo. Foram também avaliados os parâmetros de competitividade entre machos estéreis e selvagens (acasalamento, longevidade). Os resultados obtidos sugeriram que a dose de 75 Gy apresentou melhor sucesso na irradiação de pupas machos de *Culex quinquefasciatus*, pois com relação à competição com machos selvagens no acasalamento com as fêmeas, estas mantiveram a mesma taxa de fertilidade em comparação com o grupo controle ao acasalarem com os machos irradiados nesta dose. Essa dose mostrou-se também adequada com relação ao tempo de vida, pois estes mosquitos mantinham uma excelente fertilidade em comparação ao grupo controle, apresentaram um nível de esterilidade superior, pois observamos uma grande quantidade de ovos depositados por fêmeas com 100% de esterilidade.

Descritores: Mosquitos. *Culex quinquefasciatus*. TIE. Controle de insetos. Esterilização reprodutiva. Radiação gama.

Dantas IMC. Perfil lipídico na leishmaniose visceral em hamster e expressão de mRNA de genes relacionados ao metabolismo lipoprotéico (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Na fase ativa da leishmaniose visceral (LV) ocorrem alterações no metabolismo de lipoproteínas com redução dos níveis de HDL e aumento de triglicérides. A partir desses dados, focamos neste projeto essas alterações na progressão da infecção e apontamos alguns elementos como seus possíveis desencadeantes. Como essas alterações poderiam resultar de redução de atividade e expressão da lipoproteína lipase (LPL), do receptor alfa do proliferador ativado de peroxissoma (PPAR α) e da proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP), a sua expressão foi avaliada durante a progressão da LV em hamster. Em hamsteres infectados com 2×10^7 amastigotas de *L. (L.) infantum* observamos aumento de triglicérides nos hamsteres com 55 dias (mediana = 294,0 mg/dL) e 90 dias (303,0 mg/dL) de infecção comparados aos controles de 55 dias (119,0 mg/dL) e de 90 dias (117,0 mg/dL) ($p \leq 0,05$). Os níveis de colesterol total e de HDL não apresentaram diferença significativa entre controles e infectados com 30, 55 e 90 dias de infecção. A expressão de mRNA de PPAR α no fígado com 55 e 90 dias de infecção apresentou tendência de redução nos infectados. Já de CETP no fígado dos hamsteres com 55 dias de infecção, a expressão relativa (CT) estava reduzida nos infectados (0,08) comparados aos controles (1,69) ($p \leq 0,05$) e de LPL no coração dos hamsteres com 90 dias de infecção também estava reduzida (1,43) com relação aos controles (2,61) ($p \leq 0,05$). Há dados na literatura sugerindo a importância de lipídios para o desenvolvimento de amastigotas no hospedeiro vertebrado e é possível que as alterações dos níveis de lipoproteínas contribuam na progressão da infecção.

Assim, avaliamos neste estudo o efeito da droga hipolipemiante ciprofibrato no controle do parasitismo na LV em hamster, sabendo-se que ciprofibratos atuam aumentando a expressão de PPAR α e a produção e atividade de LPL. O tratamento com ciprofibrato nos hamsteres com 55 dias de infecção gerou redução de triglicérides (123,0 mg/dL) em relação aos infectados não tratados (294,0 mg/dL) ($p \leq 0,05$), além dos níveis de triglicérides nos animais infectados não tratados terem aumentado quando comparados aos controles não tratados (119,0 mg/dL) ($p \leq 0,05$). Houve também, redução de triglicérides nos animais não infectados tratados com ciprofibrato (89,0 mg/dL) comparando-se aos infectados não tratados ($p \leq 0,05$). Os níveis de colesterol nos hamsteres não infectados tratados com ciprofibrato reduziram (53,5 mg/dL) em comparação aos infectados não tratados (93,0 mg/dL) ($p \leq 0,05$). Já naqueles que foram infectados e tratados com ciprofibrato, constatamos redução de colesterol (53,5 mg/dL) quando comparados aos infectados não tratados ($p \leq 0,05$). Os níveis de HDL não aumentaram com ciprofibrato e foram similares entre os hamsteres infectados não tratados e os controles não tratados. A carga parasitária no baço e no fígado não foi reduzida com ciprofibrato. Na leishmaniose visceral em hamster ocorrem alterações do metabolismo lipídico com aumento de triglicérides e redução da expressão da mRNA de LPL e CETP. O tratamento com ciprofibrato foi eficaz no controle das alterações de níveis de lipoproteínas.

Descritores: Leishmaniose visceral. Lipídeos – Metabolismo. Hamsters. Peroxissomos. Lipoproteínas. RNA mensageiro.

Demicheli MC. *Paracoccidioides brasiliensis*: efeitos da radiação gama sobre viabilidade, metabolismo e propriedades imunológicas de conídios e leveduras (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Paracoccidioides brasiliensis é o agente da paracoccidioidomicose (PCM), a micose sistêmica mais prevalente no Brasil e na América Latina. O fungo é termodimórfico, a 36°C encontra-se na forma de levedura, e abaixo de 25°C cresce na forma micelial que pode produzir conídios, forma infectante do fungo, sobre condições específicas. O fungo é adquirido pelo trato respiratório superior, através da inalação dos conídios, sendo os pulmões e as vias aéreas superiores os primeiros locais acometidos. A partir daí, pode haver disseminação do fungo para outros locais. A radiação ionizante foi utilizada com sucesso na esterilização de agentes e produção de vacinas, por afetar os ácidos nucleicos e sua reprodução. Aqui, estudamos o efeito da radiação ionizante em *P. brasiliensis* (Pbdog) nos conídios isolados e nas formas de levedura. Formas purificadas foram irradiadas com doses entre 320 e 10.240Gy de ⁶⁰Co, avaliando a viabilidade, excreção proteica e capacidade de reprodução e crescimento. Mudanças morfológicas nas cepas irradiadas foram avaliadas por microscopia confocal e microscopia eletrônica de transmissão. A integridade do DNA celular foi avaliada por eletroforese em gel de agarose. O crescimento foi avaliado em cultura e a infectividade por inoculação em camundongos BALB/c. Conídios perderam a capacidade reprodutiva após 5.120Gy, enquanto leveduras necessitaram de 10.240Gy. A radiação não afetou a viabilidade imediata de conídios e leveduras sempre superiores que 75% e nem a excreção de proteínas por estas formas. Através da microscopia confocal e da microscopia eletrônica de transmissão observamos alterações nos núcleos das células irradiadas. Observamos por eletroforese fragmentação do DNA das células irradiadas, o que foi confirmado por alterações morfológicas significativas verificadas no núcleo celular e que provavelmente estão relacionadas à perda da capacidade reprodutiva. Nenhuma unidade formadora de colônia foi recuperada dos tecidos de camundongos BALB/c inoculados com os conídios e leveduras irradiadas. A histologia do fígado, baço e pulmão 30, 60 e 90 dias após o inóculo com fungos irradiados não tinham alterações histológicas ou células fúngicas a histoquímica. Macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c inoculados com conídios ou leveduras irradiados apresentaram maior capacidade fagocítica do que os de animais inoculados com formas fúngicas não irradiadas. Camundongos BALB/c inoculados com conídios irradiados apresentavam níveis séricos mais elevados das citocinas IFN- γ , TNF - α e IL-2, do que os inoculados com leveduras e ambos tinham níveis maiores que controles não inoculados. Os níveis séricos de citocinas regulatórias IL-4 e IL-10 foram, mais baixos em animais inoculados com fungos irradiados do que em soro de camundongos BALB/c infectados com fungos viáveis. A irradiação de conídios de *P. brasiliensis* permite a eliminação de sua reprodução e modula seu potencial imunogênico caracterizado pelo aumento das citocinas e da atividade fagocítica, abrindo a possibilidade de seu uso em futuras intervenções imunológicas na PCM.

Descritores: *Paracoccidioides brasiliensis*. Conídio. Leveduras. Radiação gama. Atenuação. Virulência.

Domingues W. Polimorfismos genéticos de citocinas em indivíduos de área endêmica da Amazônia Legal brasileira com as formas sintomática e assintomática de malária (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Dentre todas as doenças infecciosas, a malária é a que exerce maior impacto sobre a mortalidade, sobretudo a infantil, em áreas endêmicas. O fato de apenas uma pequena porcentagem de indivíduos que vivem em áreas endêmicas desenvolverem complicações sugere que fatores genéticos do hospedeiro possam exercer papel fundamental. A identificação de polimorfismos genéticos de nucleotídeo único (SNP), associados à suscetibilidade ou proteção contra as formas sintomáticas de malária poderia auxiliar na elaboração de estratégias vacinais. O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência de polimorfismos de citocinas pró e anti-inflamatórias em indivíduos moradores de uma área endêmica da Amazônia Legal brasileira. Foram investigados cinco SNP em cinco citocinas: IL-6 (-174) e IL-12p40 (+1188), IL-4 (+33), IL-10 (-3575), TGF β 1 (+869) por meio de PCR-RFLP. Foram realizadas comparações entre as frequências genotípicas e alélicas desses SNP em dois grupos de indivíduos, com malária sintomática e assintomática e verificada a existência de associação entre os SNP de citocinas e os níveis de parasitemia. Foram recrutados 104 indivíduos com malária sintomática, porém não complicada, e 37 indivíduos assintomáticos que permaneceram desta forma por um período mínimo de 60 dias. As amostras de sangue foram colhidas em 1995 e 1996, época em que a transmissão de malária na região era perene. O diagnóstico laboratorial de malária foi realizado pelo teste da gota espessa e/ou semi-nested PCR. O teste do χ^2 foi aplicado para a comparação entre os grupos. A frequência do genótipo TT (selvagem) na posição -3575 foi maior no grupo AS em relação ao grupo MS [$\chi^2=3,716$; $p=0,0269$; OR=0,4249, $pc=0,0424$]. Também houve diferenças quando comparamos o genótipo TT em relação aos genótipos AA e AT agrupados [$\chi^2=3,747$; $p=0,0264$; OR=0,4053; $pc=0,0264$]. Na análise por alelo, a frequência do alelo T também foi maior no grupo AS em relação ao MS [$\chi^2=4,506$; $p=0,0169$; OR=0,4570; $pc=0,0250$]. Na análise da parasitemia os indivíduos foram divididos em dois grupos: parasitemia não detectável (ND), $n=80$, ou detectável, $n=61$. Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes apenas em relação ao polimorfismo IL-12p40 +1188 com 36 indivíduos no grupo ND (45%) e 18 no grupo com parasitemias detectáveis (29,50%) [$\chi^2=4,725$; $p=0,0149$; OR=2,235; $pc=0,0232$]. Ademais, quando os sujeitos de pesquisa com genótipo AA (selvagem) foram comparados aos indivíduos com genótipo AC e CC nos dois grupos, mais uma vez foram encontradas diferenças estatisticamente significantes [$\chi^2=3,515$; $p=0,0304$; OR=1,955; $pc=0,0446$]. Em relação aos cinco SNP investigados, todas as distribuições genotípicas estavam de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Concluindo, as cinco PCR-RFLP para a detecção de polimorfismos da IL6 (-174), IL12p40 (+1188), IL4 (+33), IL10 (-3575) e TGF β 1 (+869) foram padronizadas com sucesso. Apenas para o polimorfismo da IL10 - 3575 T->A foram encontradas frequências mais elevadas do alelo selvagem T e dos genótipos TT e TA nos indivíduos assintomáticos em relação aos sintomáticos, sugerindo um possível papel protetor do alelo selvagem. Em relação ao polimorfismo da IL-12p40 +1188, foi observada frequência mais elevada do genótipo selvagem AA entre indivíduos com parasitemia indetectável pela gota espessa.

Descritores: Malária. Reação em cadeia por polimerase. Citocinas. Parasitemia. Polimorfismo genético. Enzimas de restrição.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-21022014-105246/pt-br.php>

Fonseca ALS. Leishmaniose visceral: raça canina e perfil lipídico (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

A leishmaniose visceral, causada no Brasil por protozoários da espécie *Leishmania (L.) infantum*, apresenta-se nos canídeos com manifestações similares à doença humana. Diversos trabalhos têm investigado a relação entre raças caninas e suscetibilidade/resistência à doença sendo as alterações lipídicas consideradas também nessa avaliação. Para avaliar o grau de comprometimento conforme a raça e as alterações lipídicas nos cães portadores de leishmaniose visceral, analisamos alterações hematológicas e bioquímicas frente à manifestação da doença em diferentes raças ou grupos raciais. Para tanto, incluímos 162 cães de área endêmica, sem histórico de outras patologias ou de vacinação contra leishmaniose, organizados em grupos de cães naturalmente infectados segundo a raça, quais sejam, Boxer, Labrador, Pit Bull, Sem Raça Definida (SRD) e Outras Raças, e grupo controle não infectados. Na avaliação das manifestações clínicas, dividimos os animais, dentro de cada grupo de cães infectados em assintomáticos (sem nenhum sinal clínico), oligossintomáticos (de 1 a 3 sinais clínicos) e polissintomáticos (acima de 3 sinais clínicos). As raças/grupos formadas pelo total de cães infectados (assintomáticos + oligossintomáticos + polissintomáticos) também foram avaliados segundo o escore de gravidade da infecção. Para analisar as possíveis alterações laboratoriais decorrentes da infecção de cães por *Leishmania (L.) infantum* foram realizados hemograma, leucograma, dosagens de albumina, globulinas, proteínas plasmáticas totais, creatinina, ureia, alanino aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (high density lipoproteins, HDL), lipoproteínas de baixa densidade (low density lipoproteins, LDL), lipoproteínas de densidade muito baixa (very low density lipoproteins, VLDL) e triglicérides. Analisados em conjunto, observamos que os animais assintomáticos, independentemente de raça/grupo, apresentaram parâmetros bioquímicos e hematológicos similares aos valores descritos para o grupo controle não infectado. Não observamos diferença na gravidade das manifestações da doença entre as raças ou grupos raciais para o desenvolvimento da Leishmaniose Visceral Canina. As diversas raças e grupos raciais apresentaram alterações nos parâmetros pesquisados, porém os quadros de hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e anemia foram identificados com maior frequência, sendo correlacionados à gravidade na raça Labrador e nos grupos SRD e Outras Raças. O quadro de anemia foi mais importante na raça Pit Bull. O grupo Outras Raças apresentou o maior número de alterações correlacionadas à gravidade. A raça Labrador apresentou concentração de HDL diminuída em relação às demais raças. As alterações lipídicas, principalmente em HDL, VLDL e triglicérides foram correlacionadas à gravidade no grupo Outras Raças.

Descritores: Leishmaniose visceral animal. Doenças infecciosas em animais. *Leishmania infantum*. Raças animais. Lipídeos.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-31012014-113256/pt-br.php>

Marciano MAM. Pesquisa de IgG anti-*Toxoplasma gondii* em exsudato cárneo para monitoramento da qualidade da carne bovina (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

A toxoplasmose, causada pelo *Toxoplasma gondii*, é uma das infecções parasitárias sistêmicas mais prevalentes no mundo, atingindo aproximadamente um bilhão de pessoas e parcela significativa do rebanho bovino destinado ao consumo humano. A ingestão de carne crua ou mal cozida, contendo cistos viáveis do agente, é uma das principais formas de transmissão da doença, sendo responsável pela ocorrência de vários surtos epidêmicos. Atualmente, não existe um serviço nacional de monitoramento da qualidade da carne e seus produtos para esta protozoose, já que a inspeção industrial é apenas macroscópica. Métodos de detecção de cistos, como o bioensaio e a PCR apresentam limitações devido ao longo tempo de execução e custo considerável, sendo inviáveis em larga escala. Em estudos prévios, demonstrou-se por ensaio imunoenzimático (ELISA) que o exsudato cárneo, fluido obtido pelo descongelamento da carne, permite a detecção de IgG anti-*T.gondii* em cortes comerciais de carne de coelho, viabilizando o uso desta metodologia como ferramenta para monitoramento da carne. No presente trabalho, padronizou-se o ELISA para exsudato cárneo bovino, utilizando amostras provenientes de bezerros experimentalmente infectados por *T.gondii*. A infecção dos animais foi comprovada pela presença de anticorpos IgG no soro pelos métodos de ELISA, Hemaglutinação Indireta (HI) e Teste de Aglutinação Modificada (MAT), e também pela presença de cistos cerebrais visualizados por imunohistoquímica e detectados por PCR. Após padronização em modelos experimentais, aplicou-se o ELISA em cortes comerciais de carnes bovinas in natura, obtidas comercialmente (n=99), resultando numa positividade de 38,38% (38/99). Avaliou-se, também, a aplicação desta metodologia para produtos cárneos processados como a carne de sol, sendo que somente 28% (9/32) das amostras apresentaram quantidade suficiente de sangue para detecção de anticorpos IgG por ELISA. Este efeito também foi observado em amostras de carne de sol, obtidas no varejo, sendo que de um total de 42 amostras, apenas 9,5% (4/42) apresentaram quantidade suficiente de sangue no exsudato, limitando a utilização deste material para detecção de IgG anti-*T.gondii* em cortes comerciais de carnes processadas, embora esta abordagem seja perfeitamente factível para cortes de carne in natura. Foram padronizados, ainda, testes de aglutinação como a HI e o MAT para detecção de IgG em exsudato cárneo bovino. Após padronização, estes testes foram aplicados em amostras de exsudatos de carnes obtidas no varejo, porém apresentaram resultados falso negativos, com baixa sensibilidade quando comparados com o ELISA (padrão ouro). Os dados deste trabalho mostram que a abordagem diagnóstica proposta, utilizando exsudato cárneo bovino como material biológico, representa um método importante e de fácil execução para o monitoramento da carne bovina em programas de controle sanitário, podendo contribuir diretamente com a prevenção da infecção humana e elucidação de surtos epidêmicos da doença.

Descritores: Toxoplasmose. *Toxoplasma gondii*. Doenças transmitidas por alimentos. Exsudato cárneo. Segurança alimentar (controle de qualidade). Testes sorológicos.

Martins TFC. Análise da eficiência da PCR com identificação específica do agente etiológico para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Atualmente, um dos grandes problemas relacionados à leishmaniose é a falta de um diagnóstico específico capaz de identificar e diferenciar espécies de *Leishmania* com rapidez e precisão. O desenvolvimento de métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), possibilita que o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) possa se tornar mais preciso e, eventualmente, de fácil execução, uma vez que limitações importantes relacionadas à sensibilidade e especificidade desta técnica ainda são descritas, principalmente quando se utiliza amostras clínicas. Com o intuito de melhor avaliar a eficiência da PCR para o diagnóstico da LVC, foram selecionadas diferentes amostras clínicas (baço, aspirado de linfonodo, pele sem lesão, pele com lesão e amostras de sangue) de 26 cães com sorologia positiva para leishmaniose submetidos à eutanásia pelo Serviço de Vigilância Epidemiológica do município de Embu das Artes - SP. Realizamos uma análise comparativa entre a PCR-RFLP kDNA-HaeIII e PCR-RFLP hsp70-BsaJI/EcoRII com dois métodos diagnósticos tradicionais (parasitológico direto, e cultura in vitro). Amostras clínicas de 28 cães com sorologia negativa para LVC da mesma região foram utilizadas como controle negativo das reações. Notamos que a PCR apresentou maior sensibilidade em todas as amostras clínicas testadas quando comparadas aos métodos tradicionais. Os resultados apontam que a PCR-RFLP kDNA-HaeIII é a mais eficiente para o diagnóstico da LVC, com um índice de 96,15% de positividade nas amostras de pele com lesão. Quanto à discriminação da espécie de *Leishmania* envolvida na infecção, nossos resultados de PCR-RFLP kDNA-HaeIII indicam *Leishmania chagasi-infantum* como o agente etiológico envolvido na infecção e transmissão canina na cidade de Embu das Artes. Por outro lado, a análise da PCR em Tempo Real (qPCR), mostrou que algumas amostras de sangue não apresentavam o padrão associado à *Leishmania chagasi-infantum*, podendo indicar uma co-infecção com outras parasitoses caninas. Nosso grupo também acompanhou 184 crianças de 4 a 10 anos de idade (população de risco) residentes da mesma região de transmissão autóctone da doença canina, como também foi realizado um levantamento das espécies de flebotomíneos da região (pela SUCEN). Até o momento, não foi encontrado nenhum caso da doença humana, nem a principal espécie transmissora do parasito (*Lutzomyia longipalpis*). Acreditamos que esses resultados possam contribuir significativamente para aprimorar o diagnóstico e a identificação das espécies *Leishmania* na LVC.

Descritores: kDNA. Reação em cadeia por polimerase. Leishmaniose visceral animal. Amostras clínicas. Leishmania. Técnicas de diagnóstico molecular.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-22042014-092904/pt-br.php>

Nali LHS. Investigação da reativação dos poliomavírus humanos JC e BK em pacientes com esclerose múltipla (EM) sob tratamento com Natalizumab e pacientes com EM sob outros tratamentos (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença autoimune caracterizada por um processo neuroinflamatório com degeneração axonal progressiva. O medicamento Natalizumab (Biogen Idec, NC, USA) representa hoje um dos tratamentos mais promissores para EM. Entretanto, pacientes sob esse tratamento possuem maiores chances de desenvolver Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP), em decorrência de uma possível reativação do poliomavírus JC (VJC). Além do VJC, o poliomavírus BK (VBK) pode representar uma preocupação adicional para tais pacientes, uma vez que também apresenta capacidade de causar encefalopatias. Apesar do Natalizumab ser uma ótima ferramenta contra a EM, o fato de interagir de alguma maneira com os poliomavírus, em especial o VJC, impede que seja utilizado em larga escala. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi investigar os padrões de excreção e reativação dos VJC e VBK em pacientes com EM durante o tratamento com Natalizumab e comparar aos padrões observados em pacientes que se encontram sob outros tratamentos. Amostras seriadas de sangue e urina foram coletadas e submetidas a testes de biologia molecular para detecção do vírus e caracterização molecular. Foram analisados 97 pacientes em diferentes tempos de acompanhamento. Não foi observada presença de poliomavírus no sangue de nenhum dos indivíduos analisados. Entretanto, 36% excretavam poliomavírus na urina em pelo menos uma das coletas, sendo que 21,7% excretavam VJC, 9,3% excretavam VBK e 5,1% excretavam ambos os poliomavírus. Não foi observada diferença entre as taxas de excreção urinária de poliomavírus entre pacientes que tratavam com Natalizumab (38,9%) e pacientes que sob outros tratamentos (34,5%), sendo que para o Grupo Controle (GC); 21,3%, 8,2% e 4,9% excretavam VJC, VBK e ambos os vírus, respectivamente e para o grupo Grupo Natalizumab (GN) 22,2%, 11,1% e 5,6% excretavam VJC, VBK e ambos os vírus, respectivamente. As análises moleculares da Região Regulatória do VJC revelaram sequências de característica arquetípica. A reconstrução filogenética de sequências do gene VP1 do VJC revelou predominância do genótipo 3 e do genótipo 1 para o VBK. Não foi observada diferença estatística da carga viral do VJC e do VBK entre os dois grupos. Foi detectada uma mutação (E29G) na VP1 de uma paciente que apresentou alta carga viral do VJC. Do grupo GN, 14 apresentaram anticorpos para VJC, sendo que desses 58% apresentou excreção de VJC, 42% não apresentou excreção urinária, interessante uma paciente não apresentou anticorpos contra o VJC, mas apresentou excreção de VJC. Pode-se concluir principalmente que a detecção de anticorpos, concomitantemente com a investigação molecular do VJC poderá contribuir para uma melhor determinação da estratificação do risco de desenvolvimento de LEMP em indivíduos com EM sob tratamento com Natalizumab.

Descritores: Vírus JC. Vírus BK. Natalizumab. Esclerose múltipla. Reativação viral. Poliomavírus.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-06092013-153011/pt-br.php>

Pinedo-Cancino V V. Caracterização e avaliação dos antígenos excretados-secretados da *Leishmania infantum chagasi* na detecção da leishmaniose visceral canina (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Leishmaniose visceral canina (LVC) causada por *L. infantum chagasi* é uma doença de expansão mundial e, no Brasil, representa um grande desafio de saúde pública devido a sua urbanização. *Leishmania sp* excretam-secretam moléculas (ESA) em meio de cultivo com importância na indução da imunidade mediada pelas células T e B. Essas moléculas mostraram ser fonte alternativa de antígenos para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana, principalmente por sua especificidade. O objetivo principal deste estudo foi caracterizar e avaliar os antígenos ESA da *L. infantum chagasi* utilizadas no imunodiagnóstico da LVC por ELISA e Immunoblotting. As melhores condições para obter os ESAs foi a incubação de 5×10^8 promastigotas/mL em meio RPMI-1640 por 24 horas à 26°C. O ESA de *L. infantum chagasi* é constituído de moléculas termoestáveis, não é produto de degradação metodológica, apresenta reprodutibilidade em diferentes lotes e isolados, e podem ser mantidos a temperatura de -20 °C por até 12 meses. A antigenicidade do ESA e do extrato antigênico alcalino (PEA) da *L. infantum chagasi* é mais dirigida para epítomos proteicos do que carboidratos, porém não compartilham os mesmos epítomos reconhecidos por anticorpos anti-*L. infantum chagasi*. O estudo de Immunoblotting dos ESAs das espécies de *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. infantum chagasi* mostrou semelhanças antigênicas entre si, com intensa reatividade para a região de bandas de 26,5 a 31,5 kDa para o ESA da *L. infantum chagasi*, que reagiu com toda a superfície celular das três espécies de *Leishmania*. A análise imunodiagnóstica foi espécie dependente e os melhores índices foram alcançados com antígeno ESA da espécie homóloga com sensibilidade de 96,7% a 100% e especificidade de 96,4% a 100% no ELISA (ESA-ELISA) e Immunoblotting (ESA-blot) respectivamente. Soros de cães sintomáticos e assintomáticos com parasitologia positiva reconheceram a região imunodominante (26,5 a 31,5 kDa), que não reagem cruzadamente com soros de cães infetados com *T. cruzi* ou *T. evansi*. ELISA e Immunoblotting com ESA mostraram resultados com excelente concordância (Kappa) em amostras de soros de cães provenientes de diferentes áreas geográficas. O ESA-ELISA mostrou ser um teste promissor no diagnóstico sorológico da leishmaniose canina e o ESA-blot um teste confirmatório de infecção por *Leishmania* principalmente em casos discordantes de sorologia. A combinação do ESA-ELISA e ESA-blot de *L. infantum chagasi* seriam os testes mais eficientes no diagnóstico da leishmaniose canina.

Descritores: Leishmaniose visceral animal. Antígenos. *Leishmania infantum*. ELISA. Immunoblotting. Testes imunológicos.

Reis LC. Influência do fator de crescimento insulina-símile I no efeito de citocinas na resistência e suscetibilidade na leishmaniose cutânea murina por *Leishmania (Leishmania) major* (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Na infecção por *Leishmania*, o fator de crescimento insulina-símile I (IGF-I) extrínseco foi observado induzindo a proliferação do parasito e progressão da infecção. Neste projeto avaliamos a influência do IGF-I intrínseco do macrófago no efeito de citocinas na resistência e suscetibilidade na leishmaniose cutânea murina por *Leishmania (Leishmania) major*. Em macrófagos RAW 264.7, inicialmente, observamos a presença e localização celular do IGF-I na interação macrófagoparasito por microscopia confocal. Foi avaliada, a seguir, a expressão de mRNA de IGF-I (por PCR em tempo real) por macrófagos RAW 264.7 infectados por *Leishmania* submetidos a efeitos de citocinas Th1 e Th2. Posteriormente analisou-se o parasitismo após silenciamento do IGF-I por RNA de interferência (siRNA) e também sob efeito de citocinas. Macrófagos estimulados com IFN- γ levaram a uma redução do parasitismo acompanhada de uma redução na expressão de IGF-I. Quando as células foram estimuladas com IL-4 e IL-13 ocorreu um aumento tanto do parasitismo quanto da expressão de IGF-I. O silenciamento do IGF-I por siRNA resultou na diminuição não só da expressão de mRNA (70%), mas do próprio IGF-I, à observação por microscopia confocal. Avaliamos o parasitismo nos grupos infectados e depois tratados com siRNA. Após 24 horas, de 105 parasitos/100 células no grupo sem siRNA, esse número caiu para 90 no grupo com siRNA. Após 48 horas, a diminuição foi de 100 parasitos/100 células no grupo sem siRNA para 54 no grupo com siRNA ($P < 0,05$). Na avaliação da participação de citocinas Th1 e Th2 no parasitismo após silenciamento do IGF-I, observamos resultados relevantes.

Quando recorremos ao silenciamento com siRNA, todos apresentaram diminuição da expressão de mRNA de IGF-I em relação aos seus controles sem siRNA ($P < 0,05$), tanto nas infecções utilizando promastigotas e amastigotas, principalmente quando as células foram estimuladas com citocinas Th2. No experimento com infecção com amastigotas, após 48h nas células tratadas com siRNA e estimuladas com IL-4 e IL-13 concomitantemente observou-se uma diminuição e não aumento no número de parasitos, observando-se 102 parasitos quando comparado com 150 do seu respectivo controle (células estimuladas com IL-4 e IL-13 sem siRNA). Nas células sem siRNA e estimuladas com IL-4 foram observados 151 parasitos e nas células tratadas com siRNA e estimuladas com a citocina não se observou aumento, mas diminuição do parasitismo para 87. Também foi observada uma diminuição e não aumento no número de parasitos, observando-se 76 nas células tratadas com siRNA e estimuladas com IL-13 quando comparado com 137 do seu respectivo controle (células estimuladas com IL-13 sem siRNA). Para certificarmos o efeito biológico do IGF-I que sugere ser fundamental, realizamos ensaio de recuperação do mesmo onde, após a incubação com siRNA, foi adicionado IGF-I recombinante. Ao repor o IGF-I nos grupos tratados com siRNA foi observado um aumento no número de parasitos. Os nossos resultados sugerem que o IGF-I tem efeito direto no parasitismo e que mesmo com os estímulos das citocinas, a presença do IGF-I é necessária para promover a proliferação de *Leishmania*. Como não foi observada correlação entre o parasitismo e níveis de óxido nítrico, mas sim uma correlação com os níveis de IGF-I sob efeito de citocinas, sugere-se que o IGF-I seja efector da ação das citocinas.

Esses resultados reforçam a importância do IGF-I na infecção por *Leishmania*, sugerindo que o IGF-I atue como efector da ação das citocinas no controle da infecção por *Leishmania*.

Descritores: Leishmaniose cutânea. Citocinas. Fatores de crescimento. Macrófagos. *Leishmania (Leishmania) major*.

Rodrigues JP. Testes fluorimétricos na sorologia da toxoplasmose humana: detecção simultânea de anticorpos IgG e IgM específicos (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

A toxoplasmose, protozoose disseminada de baixa morbidade, apresenta número significativo de doença ocular, congênita ou do sistema nervoso central. O diagnóstico é sorológico por diferentes testes, mas limiares baixos e variação individual levam a frequentes problemas. Novos imunoenaios fluorescentes de fase sólida (FLISA) usam a quantificação direta de anticorpos. Aqui, desenvolvemos um FLISA multiplex (FLISAm) para a detecção simultânea de anticorpos IgG e IgM contra *Toxoplasma gondii*. Após padronização, a eficiência do FLISAm com conjugados comerciais foi feita inicialmente de forma isolada para cada imunoglobulina em 140 amostras de soro de universitários previamente analisadas pelo ELISA IgG/IgM. FLISA IgG mostrou boa concordância ($Kappa=0,7088$), com sensibilidade de 83,3% e especificidade de 94,2%, enquanto FLISA IgM apresentou boa concordância ($K=0,6026$), menor sensibilidade de 55,5% e igual especificidade de 98,4%. Foram produzidos novos conjugados fluorescentes de maior especificidade e seu desempenho no FLISAm foi validado em 24 amostras e sua eficiência foi avaliada em 120 amostras conhecidas de soro de gestantes. FLISAm mostrou excelente concordância, tanto para a detecção de anticorpos IgG ($K=0,8837$, sensibilidade=100,0%, especificidade=87,5%), quanto para a detecção de anticorpos IgM ($K=0,9187$, sensibilidade=100%, especificidade=99,1%) com excelente reprodutibilidade. O teste desenvolvido é rápido, econômico, de fácil execução, alto rendimento e que pode ser utilizado como método de triagem de soroconversão em mulheres grávidas, útil em aplicações de grande número de amostras como o cuidado pré-natal.

Descritores: *Toxoplasma gondii*. Testes sorológicos. Imunoensaio. Fluorometria. Corantes fluorescentes.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-17032014-115211/pt-br.php>

Santos TA. Determinação do perfil do polimorfismo da IL28B em indivíduos coinfectados pelo vírus da Hepatite C Crônica (HCV) e pelo vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1) (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

O polimorfismo de IL28B foi descrito como fator importante na patogênese de infecções causadas por alguns vírus. O objetivo desta pesquisa foi avaliar se polimorfismos (SNP rs8099917 IL28B e SNP rs12979860) foram associados na presença de HAM/TSP. Métodos: O estudo incluiu 188 pacientes do Instituto de Infectologia "Emílio Ribas" de São Paulo, divididos em três grupos: 117 Indivíduos infectados pelo HTLV-1 (49 assintomáticos e 68 com HAM TSP), 47 Pacientes mono infectados pelo vírus da Hepatite C (HCV) e 24 coinfectados pelo HTLV- 1 e HCV. Amostras de sangue foram coletadas, e o PBMC separado através da centrifugação por gradiente de densidade Ficoll-Hypaque. O DNA foi extraído usando um kit comercial, e armazenado a - 80 ° C e, a carga proviral do HTLV-1 foi quantificada. Os SNPs da IL28B na região rs8099917 e rs12979860 foram analisados em todos os grupos por PCR StepOnePlus. Resultados: A análise estatística usando modelo multivariado que incluiu as variáveis: gênero, idade, e carga proviral do HTLV-1, mostrando que o polimorfismo IL28B SNP rs12979860 não foi associado com a HAM/TSP. Em contraste, o SNP rs8099917 GG alelo foi associada com HAM/TSP, quando comparado aos indivíduos assintomáticos (OR = 6,25; IC95% = 1,22- 32,00). Conclusão: Pessoas com SNP rs8099917 genótipo GG podem apresentar uma resposta imune distinta contra a infecção pelo HTLV-1. Assim, parece razoável sugerir que uma pesquisa de polimorfismos IL28B SNP rs8099917 deve ser realizada em todos os indivíduos HTLV-1, a fim de monitorar o risco de desenvolvimento da doença.

Descritores: Hepatite C. Polimorfismo. Infecções por HTLV-I. Interleucinas.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-02092013-092357/pt-br.php>

Shimokawa PT. Estudo de alelos do HLA-DQA1 e DQB1 em fetos com toxoplasmose: associação com os genótipos parasitários (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Os genótipos do hospedeiro e do parasito fazem parte dos fatores associados à patogênese na toxoplasmose congênita. Pouco se sabe sobre genes humanos que conferem suscetibilidade ou resistência à toxoplasmose, porém, em relação aos genótipos parasitários, foram descritas três linhagens clonais na Europa e EUA, com predomínio do genótipo II em infecções congênitas, enquanto que na América do Sul parece haver predomínio de parasitos não clonais associados a infecções de maior gravidade. Os objetivos do presente estudo foram: a) determinar a frequência de alelos do HLA, regiões DQA1 e DQB1, por PCR-SSP em fetos infectados e não infectados por *T. gondii*; b) determinar o genótipo parasitário por multiplex-nested-PCR-RFLP seguido de sequenciamento dos marcadores 5'- SAG2, 3'- SAG2, SAG3 e GRA6 em amostras de fetos infectados; c) verificar a existência de associação entre os alelos do HLA- DQA1 e DQB1 e os genótipos parasitários em fetos infectados. A casuística do estudo foi composta por 122 fetos com toxoplasmose confirmada, e 103 fetos sem toxoplasmose. A análise da frequência alélica do HLA-DQA1 indicou que o alelo 0102* poderia conferir proteção: $p=0,0273$ e Odds Ratio (OR) de 0,49 enquanto os alelos 0103* e 0302* poderiam conferir suscetibilidade ($p=0,0008$, $OR=2,967$ e $p=0,0012$, $OR=7,912$, respectivamente). Na região DQB1, o alelo 0201* e o alelo 0603* poderiam conferir proteção ($p=0,0032$, $OR=0,4645$ e $p=0,0339$, $OR=0,4935$, respectivamente), enquanto os alelos 0502* e 0504* poderiam conferir suscetibilidade ($p=0,0103$, $OR=4,258$ e $p=0,0017$, $OR=3,948$, respectivamente). Os alelos de proteção ou suscetibilidade foram agrupados em haplótipos e foram identificados 22/122 fetos infectados com haplótipos de suscetibilidade e 1/103 no grupo controle ($p=0,0001$, $OR=18,57$).

A genotipagem parasitária seguida de RFLP revelou que 113/122 amostras amplificaram 5' e 3' SAG2 (100 tipo I, 11 tipo II e 2 tipo III); SAG3 amplificou 106 amostras (95 tipo III e 11 tipo II); GRA6 amplificou 75 amostras (1 tipo I, 1 tipo II e 73 tipo III). Em 116 das 122 amostras (95,08%) os parasitos causadores de infecção não eram clonais, e houve predomínio do perfil 5' e 3'- SAG2 tipo I, SAG3 tipo III e GRA6 tipo III encontrado em 92 amostras. A frequência de sequenciamentos que confirmaram as RFLP considerando apenas o sítio de restrição variou entre 88,8 – 100% na dependência do marcador, e caiu para zero - 87,5% quando todo o fragmento sequenciado foi comparado aos três protótipos (RH, ME49 e VEG). Foram detectados polimorfismos em 29,9% das amostras, sem regiões hot spot ou polimorfismos não sinônimos. Concluindo, o estudo analisou a frequência dos alelos do HLA-DQA1 e DQB1 identificando três alelos de proteção, quatro de suscetibilidade, e haplótipos de suscetibilidade mais frequentes nos fetos infectados. Os genótipos parasitários revelaram predominância de parasitos SAG2 tipo I, SAG3 e GRA6 tipo III, não clonais, com resultados de RFLP discordantes dos sequenciamentos. Não foi encontrada associação dos alelos do HLA-DQA1 e DQB1 com os genótipos parasitários nos fetos infectados.

Descritores: *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmose congênita. Técnicas de genotipagem. Antígenos HLA. Reação em cadeia por polimerase. Sequência do DNA.

Sitta RB. PCR convencional no diagnóstico molecular da estrogiloidíase humana (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Estrongiloidíase, causada pelo nematódeo *Strongyloides stercoralis*, é frequentemente assintomática, no entanto é potencialmente grave em pacientes imunodeprimidos. O diagnóstico da infecção latente é difícil devido às limitações dos métodos de diagnóstico atuais. Este estudo teve como objetivo verificar o uso da PCR (Reação em cadeia da polimerase) convencional para o diagnóstico molecular da infecção por *S. stercoralis*. Amostras de fezes foram obtidas de 103 indivíduos: 33 positivas para *S. stercoralis*, 30 positivas para outros enteroparasitas e 40 negativas pelos métodos parasitológicos. Estas amostras foram analisadas pelos métodos parasitológicos (Lutz, Rugai e cultura em placa de ágar) e pela PCR convencional. Dois conjuntos de iniciadores (espécie-específico e gênero-específico), localizados no gene do RNA ribossomal 18S, foram utilizados para a PCR. Das 33 amostras positivas para *S. stercoralis* pelos métodos parasitológicos, 28 (84,8%) foram detectados por PCR usando os iniciadores espécie-específico e 26 (78,8%) pelos iniciadores gênero-específico. Entre as amostras de fezes negativas pelos métodos parasitológicos, sete (17,5%) foram positivas por PCR utilizando iniciadores espécie-específico e dois (5,0%), utilizando iniciadores gênero-específico. Em conclusão, a PCR convencional, descrito neste estudo, utilizando o par de iniciador espécie-específico pode ser utilizado como um método de diagnóstico molecular para *S. stercoralis* em amostras de fezes humanas.

Descritores: *Strongyloides stercoralis*. Biologia molecular (diagnóstico). Reação em cadeia por polimerase. Estrongiloidíase.

Souza AV. Identificação de bocavírus humano em crianças com infecção aguda do trato respiratório inferior (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

O bocavírus humano (BoVH) é um vírus recém-descoberto, pertencente à família Parvoviridae, possivelmente responsável por casos de infecção respiratória aguda. Alguns estudos utilizando métodos de diagnóstico molecular indicaram distribuição global, e alguma evidência de patogenicidade, embora haja controvérsias sobre essa última questão. O objetivo do trabalho foi avaliar a prevalência e o impacto clínico de BoVH em pacientes pediátricos com diagnóstico de infecção aguda do trato respiratório inferior. Amostras de aspirado nasofaríngeo de 603 pacientes com idade inferior a 5 anos de idade com diagnóstico de infecção aguda do trato respiratório inferior, atendidos em 3 diferentes unidades de saúde na cidade de São Paulo, Brasil, foram coletadas de maio de 2004 a dezembro de 2007. O DNA de BoVH e a carga viral foram determinados por PCR em tempo real. As co-deteções nas amostras positivas para BoVH foram determinadas pela identificação de outros vírus respiratórios por imunofluorescência direta, PCR qualitativo e PCR em tempo real. BoVH foi identificado por PCR em tempo real em 127 de 603 amostras (21,1%) e como único agente em 19 dos 127 (15%) dos casos positivos. As co-deteções foram a maioria dos casos (85%), principalmente devido à grande quantidade de amostras positivas para VSR em 61 das 127 (48%) amostras. O número de co-deteções foi mais alto em amostras obtidas de pacientes mais novos. Uma grande amplitude de valores de carga viral de BoVH foi observada, mas amostras com valores mais baixos (<103 cópias/ng DNA BoVH) predominaram. Cargas virais mais elevadas de BoVH (maior que 104 cópias/ng DNA) não foram associadas a sinais e sintomas clínicos. BoVH é encontrado frequentemente em amostras de aspirado nasofaríngeo de lactentes e crianças com infecção aguda do trato respiratório inferior, principalmente em co-deteções com vírus respiratórios notoriamente patogênicos como VSR. O subtipo BoVH-1 foi identificado, por sequenciamento de fragmento da região VP1/VP2, em 19 amostras avaliadas. Não foi encontrada associação da detecção única de BoVH com valores de carga viral e com os parâmetros clínicos coletados. Pacientes com BoVH como único agente identificado tiveram valores de oximetria de pulso mais elevados que os pacientes que apresentaram co-deteção com outros vírus; além disso, a detecção única de BoVH esteve associada a menor frequência de chiado e hipoxemia do que a observada em pacientes com co-deteções. Estes resultados indicam que o papel patogênico de BoVH nas doenças respiratórias da infância permanece incerto. Mais estudos serão necessários para a melhor compreensão da questão da patogenicidade de BoVH no trato respiratório de humanos.

Descritores: Bocavírus humano. Vírus respiratórios. Infecções do trato respiratório inferior. Crianças.

Teixeira AGK. *Paracoccidioides brasiliensis*: estudo comparativo dos genovares existentes em amostras humanas no estado do Tocantins, Brasil (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

A paracoccidioidomicose (PCM) é a micose sistêmica mais prevalente na América Latina e no Brasil, causada pelos fungos dimórficos *Paracoccidioides brasiliensis* ou *Paracoccidioides lutzii*, somente identificáveis pela presença de genes específicos. O gene gp43 é um importante marcador molecular de *P. brasiliensis*, já o gene HSP70 é marcador do isolado Pb01 ou *P. lutzii*, que diverge das três espécies filogenéticas já identificadas (S1, PS2 e PS3). O Tocantins é um estado com ambientes amazônicos e de cerrado, onde a doença poderia ser causada por ambas as espécies. Foram diagnosticados 106 casos de paracoccidioidomicose atendidos no Hospital Público de Doenças Tropicais do Tocantins, entre outubro de 2008 a dezembro de 2012, pelo exame micológico direto com KOH 30%, com uma média anual de 47,1 casos de PCM-doença, demonstrando que o Tocantins é uma região de elevada endemicidade para a micose. A PCM prevaleceu no sexo masculino, na faixa etária de maiores de 50 anos, e a forma clínica pulmonar crônica predominou em 67% dos casos. A razão encontrada entre os gêneros masculino e feminino foi de 2,65:1, menor que em outras regiões e explicável por uma maior exposição das mulheres ao fungo. Apesar de a PCM ter um aspecto ocupacional ligado às atividades rurais, em nosso estudo, para mulheres, foi observada uma maior frequência de ocupações urbanas, diferindo do descrito na literatura, provavelmente pela urbanização dos casos. A pesquisa microbiológica e molecular de *Paracoccidioides spp* em amostras de solo do Tocantins ou de tatus *Dasytus novemcinctus* da região foi infrutífera. Analisamos comparativamente as amostras humanas do fungo *P. brasiliensis* isoladas no Tocantins com outras descritas em outras regiões do Brasil. Das 106 amostras clínicas avaliadas por biologia molecular, a presença do gene gp43 de *P. brasiliensis* foi encontrado em 56,5% (21/37) das amostras positivas. Em 30% (11/37) das amostras positivas foi encontrado somente o gene HSP70 do *P. lutzii*. Também encontramos 13,5% (5/37) de amostras com os dois marcadores, que poderiam resultar de infecção mista ou seleção de novas linhagens híbridas, como proposto por defensores de linhagens. *P. lutzii* e *P. brasiliensis* causam PCM em pacientes do Tocantins e região, que pode ser considerada área endêmica com urbanização dos casos, com importante consequência para o diagnóstico e tratamento da micose, o que demonstra a importância da inclusão da PCM como agravo de notificação compulsória e a necessidade de medidas sanitárias específicas.

Descritores: *Paracoccidioides brasiliensis*. Paracoccidioidomicose. Doenças negligenciadas.

Tozetto Mendoza TR. Análise da variabilidade genética do Herpesvirus 8 humano (HHV-8) em indivíduos infectados por HIV com e sem sarcoma de Kaposi (tese). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

O HHV-8 (herpesvírus 8 humano) é o agente etiológico do sarcoma de Kaposi (SK). Diferentemente dos outros herpesvírus, o HHV-8 é distribuído de modo não ubíquo ao redor do mundo. São sete os principais genótipos de HHV-8, de acordo com o padrão de variabilidade da ORF K1: A, B, C, D, E, F e Z. Estudos da variabilidade genética do HHV-8 poderão trazer melhores interpretações sobre o potencial patogênico dos genótipos de HHV-8 e das variações genotípicas funcionais. Dados sobre a variabilidade genética do HHV-8 no Brasil, em que o SK é associado ao HIV, permanecem escassos. Pelo nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que compara a variabilidade genética de HHV-8 em indivíduos infectados por HIV com SK e sem SK no Brasil. Objetivo. O estudo visou analisar a variabilidade genética do HHV-8 entre indivíduos infectados por HIV com SK e sem histórico de SK. Métodos. Sequências de DNA de HHV-8 foram investigadas em amostras criopreservadas de células mononucleares do sangue periférico a partir de 37 indivíduos infectados por HIV com SK (grupo 1); e de amostras de saliva de indivíduos sem SK (grupo 2), as quais foram selecionadas por meio da detecção positiva de DNA/ORF73/HHV-8 a partir de um total de 751 indivíduos. Dados demográficos e clínicos do estadió e evolução do SK, assim como parâmetros laboratoriais foram caracterizados. As análises moleculares e reconstruções filogenéticas foram baseadas nas ORFs K1 e K12 do HHV-8. Resultados. Foram obtidas sequências de DNA dos loci K1 e/ou K12 de 75 indivíduos, 34 indivíduos do grupo 1 e 41 do grupo 2. O sistema de primers empregado foi capaz de detectar os genótipos A, B, C, F e amplo perfil de subgenótipos de K1/HHV-8. Os dados não mostraram associação de genótipos de HHV-8 com a presença de SK ou estadió de SK. Todavia, o subgenótipo B1 predominou naqueles em que não houve registro de piora de SK ($p=0,04$). Os subgenótipos B1 e C3 foram igualmente predominantes em ambos os grupos. As frequências do genótipos A foram de 24% e 12,2% e dos genótipos B e C foram de 34,1 e 35,3%, nos grupos 1 e 2, respectivamente. O genótipo F foi descrito pela primeira no Brasil, um caso de cada grupo. Um amplo perfil de subgenótipos de C no grupo 2 sem SK foi encontrado (C1, C2, C3, C5 e C7). Subgenótipos K1 C5 e C7, exclusivos do grupo 2 (7%), foram confirmados como recombinantes. Não houve variabilidade genotípica de HHV-8 em amostras biológicas diferentes do mesmo indivíduo em oito casos estudados. Sítios polimórficos (6/59) em regiões codificadoras de miRNA do locus K12 foram observados, sendo 70% presentes exclusivamente em sequências de HHV-8 do grupo com SK e protótipos de SK. Conclusão. Embora não houvesse associação entre genótipos de HHV-8 e presença ou estadió de SK, o subgenótipo B1 foi significativamente relacionado ao melhor prognóstico de SK. Alguns recombinantes foram observados no locus K1 de HHV-8 em indivíduos do grupo 2 sem SK. A presença de SNPs em regiões codificadoras de miR12-12 e miR12-10 predominou em sequências de HHV-8 de indivíduos com SK, grupo 1, e protótipos de SK epidêmico, endêmico e clássico. A escolha de primers foi importante para garantir a amplificação de todos os genótipos e amplo perfil de subgenótipos de HHV-8.

Descritores: Herpesvírus 8 humano. Genótipos. Sarcoma de Kaposi. HIV. Variação genética.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-31012014-111943/pt-br.php>

Urbano PRP. Incidência, caracterização genotípica e determinação da dinâmica de excreção dos poliomavírus humanos em amostras de urina de indivíduos saudáveis (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2013.

Os Poliomavírus JC e BK são os mais importantes integrantes da família Polyomaviridae, gênero Orthopolyomavirus, devido ao seu grau de patogenicidade no homem. O poliomavírus humano JC (JCV) foi isolado a partir de fragmento do cérebro de um paciente com linfoma de Hodgkin e leucoencefalopatia multifocal progressiva por Padgett e colaboradores. Já o poliomavírus humano BK foi isolado em 1971 por Gardner e colaboradores a partir da semente da urina de um paciente, submetido a transplante renal, em cultura de células da linhagem VERO. Poucos são os dados sobre os poliomavírus humanos JC e BK em indivíduos sadios no mundo e no Brasil. Além disso, as formas de excreção e transmissão destes vírus ainda não estão completamente elucidadas. Este estudo teve como objetivos principais determinar a incidência, a dinâmica de excreção e a caracterização genotípica dos poliomavírus JC e BK em amostras sequenciais de urina de indivíduos sadios. Como objetivo secundário, foram analisados filogeneticamente os subtipos dos vírus encontrados. Foram incluídos 71 indivíduos de ambos os sexos, com idades variando entre 21 e 65 anos e destes foram coletadas amostras mensais de urina durante 6 meses. Todas as amostras do estudo foram submetidas a um teste de PCR em tempo real, que amplifica um fragmento do gene que codifica o antígeno T, e a um PCR convencional que amplifica um fragmento do gene da proteína VP1 do vírus. Ao final do período de 6 meses de acompanhamento a incidência de excreção urinária dos poliomavírus JCV e BKV na população estudada foi de 53,52% e 64,79% respectivamente. O perfil de excreção do JCV mostrou-se contínuo em 42% dos casos, intermitente em 8% e esporádico em 50% dos casos. Analisando o perfil de excreção do BKV, em 80% dos casos mostrou-se esporádico, em 17% intermitente e em 3% dos casos contínuo. Posteriormente, as amostras positivas foram sequenciadas e analisadas filogeneticamente observando-se que os genótipos mais prevalentes do JCV foram o 1, subtipo 1B e 3, seguidos dos genótipos 1, subtipo 1A e 4. Com relação ao BKV, o genótipo 1, subtipo 1A foi o mais prevalente, seguido do 4 e do 1, subtipo 1B.

Descritores: Poliomavirus. Excreção (urina). Vírus JC. Vírus BK. Genótipos. Imunocompetência.

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-06092013-150831/pt-br.php>

ÍNDICE DE AUTORIA

Alessandra Gonçalves Krakhecke Teixeira, 41
André Luis Soares da Fonseca, 30
Andrea Vieira Souza, 40
Barbara Fialho Carvalho Sampaio, 20
Camila Aparecida de Carvalho, 10
Claudia Mardegan Galiano, 14
Claudio Cesar Jaguaribe Ekman, 12
Daniel Pagotto Vendrami, 23
Daniela Cardeal da Silva, 21
Delma Rigo Rocha Cardoso, 26
Érika Gracielle Pinto, 19
Ivani José da Silva, 8
Ive Maira de Carvalho Dantas, 27
Jaqueline Polizeli Rodrigues, 36
Juliana Ide Aoki, 25
Juliana Nunes Mecca, 6
Liã Bárbara Arruda, 2
Lília Spaleta Targa, 22
Lilian de Oliveira Guimarães, 17
Luiz Henrique da Silva Nali, 33
Luiza de Campos Reis, 35
Marcelo Plaisant Geraldi, 16
Maria Aparecida Moraes Marciano, 31
Maria dos Remédios Freitas Carvalho Branco, 11
Marilda Savoia Nascimento, 7
Marina Cortez Demicheli, 28
Norival Kesper Júnior, 18
Pablo Secato Fontoura, 13

Paulo Roberto Palma Urbano, 43
Paulo Tadashi Shimokawa, 38
Renata Barnabé Sitta, 39
Rodrigo Melim Zerbinati, 4
Sérgio Vieira dos Santos, 3
Tania Regina Tozetto Mendoza, 42
Tatiane Assone dos Santos, 37
Thaynan Fernandes Cunha Martins, 32
Vera Lúcia Gattás, 15
Viviana Vanessa Pinedo-Cancino, 34
Wilson Domingues, 29

ÍNDICE DE ORIENTADORES

André Gustavo Tempone Cardoso, 19
Antonio Walter Ferreira, 14
Camila Malta Romano, 33, 42
Claudio Sérgio Pannuti, 11, 43
Eufrosina Setsuo Umezawa, 7, 18, 34
Expedito José de Albuquerque Luna, 12, 15
Fabiana Martins de Paula, 39
Heitor Franco de Andrade Júnior, 10, 20, 28, 36, 41
Hiro Goto, 27, 30, 35
Jorge Simão do Rosário Casseb, 2, 21, 37
José Eduardo Levi, 16
Karin Kirchgatter, 17
Luciana Regina Meireles Jaguaribe Ekman, 6, 8, 31
Luiz Vicente Ribeiro Ferreira da Silva Filho, 4, 40
Marly Augusto Cardoso, 13
Mauro Toledo Marrelli, 23, 26
Paulo César Cotrim, 25, 32
Pedro Paulo Chieffi, 3
Thelma Suely Okay, 22, 29, 38

ÍNDICE DE ASSUNTOS

Adolescentes, 15
Amazônia Ocidental Brasileira, 13
Amostras clínicas, 32
Análise espacial, 13
Anfíbios, 19
Antígenos excretados secretados, 18
Antígenos, 34
Antígenos HLA, 38
Atenuação, 28
Autoanticorpos, 7
Avidéz de IgG, 8
Bioinformática, 2
Biologia molecular (diagnóstico), 39
Bocavirus humano, 40
Brasil, 11, 21
Caotrópico, 8
Carga parasitária, 22
Citocinas, 29, 35
Complexo antígeno-anticorpo, 10
Comportamento animal, 3
Conídios, 28
Controle de insetos, 26
Corantes fluorescentes, 36
Crianças, 13, 40
Crianças (mortalidade), 11
Crianças em idade escolar, 15
Culex quinquefasciatus, 26
Dengue, 11
Densidade óssea, 21

Detecção de IgG, 20
Diversidade genética, 17
DNA mitocondrial, 23
Doação (sangue), 14, 16
Doença de Chagas, 7, 19, 23
Doenças congênitas, 14
Doenças infecciosas em animais, 30
Doenças negligenciadas, 41
Doenças transmitidas pela água, 12
Doenças transmitidas por alimentos, 6, 12, 31
dot-ELISA, 20
Efetividade, 15
ELISA, 8, 10, 34
Enzimas de restrição, 29
Equinos, 16
Esclerose múltipla, 33
Esterilização reprodutiva, 26
Estrongiloidíase, 39
Estudos de casos e controle, 11
Estudos de intervenção, 15
Excreção (urina), 43
Exsudato cárneo, 6, 31
Fármacos, 19
Fatores de crescimento, 35
Fatores de risco, 11
Filogenia, 23
Flavivirus, 16
Fluorometria, 36
Força muscular, 3
Genótipos, 42, 43

Hamsters, 27
Helmintologia, 3
Hepatite C, 37
Herpesvírus 8 humano, 42
HIV, 2, 21, 42
Immunoblotting, 34
Imunocompetência, 43
Imunoensaio, 20, 36
Infecção experimental animal, 3
Infecções do trato respiratório inferior, 40
Infecções por HTLV-I, 37
Infecções respiratórias, 4
Influenza, 15
Inquérito transversal, 13
Interleucinas, 37
kDNA, 32
Leishmania, 25, 32
Leishmania chagasi, 18
Leishmania infantum, 30
Leishmania infantum chagasi, 34
Leishmania (Leishmania) major, 35
Leishmania visceral, 19
Leishmaniose cutânea, 35
Leishmaniose visceral, 10, 27
Leishmaniose visceral animal, 30, 32, 34
Leptomonas seymouri, 18
Leveduras, 28
Lipídeos, 30
Lipídeos – Metabolismo, 27
Lipoproteínas, 27

Macrófagos, 35
Malária, 17, 29
Marcador molecular, 23
Mosquitos, 26
Natalizumab, 33
Paracoccidioides brasiliensis, 28, 41
Paracoccidioidomicose, 41
Parasitemia, 29
PCR vide Reação em cadeia por polimerase
Peptídeos, 19
Peroxissomos, 27
Plasmodium, 17
Polimorfismo, 37
Polimorfismo genético, 29
Poliomavírus, 33, 43
Prognóstico, 11
Proteína A, 20
Purinas, 25
Raças animais, 30
Radiação gama, 26, 28
Ratos, 3
Reação em cadeia por polimerase em tempo real, 22
Reação em cadeia por polimerase, 4, 16, 22, 29, 32, 38, 39
Reativação viral, 33
Reatividade cruzada, 18
Revisão sistemática, 12
RNA mensageiro, 27
Saliva, 20
Sarcoma de Kaposi, 42
Segurança alimentar (controle de qualidade), 6, 31

Sequência do DNA, 38
Serologia, 14
Sífilis, 14
Síndrome de imunodeficiência adquirida, 21
Strongyloides stercoralis, 39
Surto epidêmico, 12
Técnicas de diagnóstico molecular, 22, 32
Técnicas de genotipagem, 22, 38
Técnicas e procedimentos de laboratório, 4
Terapia antirretroviral, 21
Testes imunológicos, 14, 34
Testes sorológicos, 6, 8, 31 36
TIE, 26
Toxocara spp., 11
Toxocaríase, 3
Toxoplasma gondii, 6, 8, 12, , 31, 36, 38
Toxoplasmose, 6, 8, 12, 31
Toxoplasmose (diagnóstico), 20
Toxoplasmose congênita, 22, 38
Transfecção, 25
Triatominae, 23
Tripanosomatídeos, 18
Tropismo, 2
Trypanosoma cruzi, 18
Tubercidina, 25
Vacinação, 15
Vacinas, 15
Variação genética, 42
Venenos, 19
Vetores, 23

Vimentina, 7

Virologia, 4

Virulência, 28

Vírus BK, 33, 43

Vírus do Oeste do Nilo, 16

Vírus JC, 33, 43

Vírus respiratórios, 40

Western blotting, 14